

ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ БАКТЕРИОФАГИ: ПРОШЛОЕ, НАСТОЯЩЕЕ, БУДУЩЕЕ

О. Дарбеева, кандидат медицинских наук,
Д. Давыдов, кандидат биологических наук,
Л. Майская, кандидат медицинских наук,
Р. Парфенюк, кандидат биологических наук,
З. Дурманова,
Ю. Обухов

Научный центр экспертизы средств медицинского применения
Минздрава России, Москва
E-mail: davydov@exrmed.ru

Представлены данные об открытии и внедрении в практику здравоохранения препаратов бактериофагов, сведения о их высокой терапевтической активности в отношении широкого спектра бактериальных инфекций разного генеза, краткая классификация лечебно-профилактических бактериофагов. Обоснована перспективность дальнейшего изучения применения бактериофагов как альтернативы средствам традиционной антимикробной терапии и профилактики инфекционных заболеваний, в том числе вызываемых микроорганизмами с множественной лекарственной устойчивостью.

Ключевые слова: лечебно-профилактические бактериофаги, множественная лекарственная устойчивость, нозокомиальные инфекции, антибактериальная терапия.

Множественная устойчивость возбудителей инфекций к широкому кругу антибиотиков делает процесс выбора антимикробной терапии актуальной проблемой современной медицины. Однако резервы создания новых антибиотиков практически исчерпаны [1]. В этой ситуации закономерен интерес к бактериофагам как к средствам антибактериальной терапии.

Бактериофаги – вирусы бактерий, естественные регуляторы их популяции. Они чрезвычайно широко распространены во всех ареалах обитания бактерий – в почве, водах рек, озер, болот и морей, организмах животных и растений. Общая их численность в биосфере – до 10^{30-32} [2].

ИЗ ИСТОРИИ ОТКРЫТИЯ И ПРАКТИКИ ФАГОТЕРАПИИ

Бактериофаги (от гр. φαγω – пожираю) – вирусы, «пожирающие» бактерии. В 1917 г. их открыл и дал им название канадский ученый Ф. д'Эрель. В 1896 г. Э. Ханкин описал антимикробную активность в отношении холерного вибриона проб воды из рек Индии. В 1898 г. Н.Ф. Гамалея наблюдал явление перевиваемого лизиса у возбудителя сибирской язвы [3]. В 1915 г. англичанин Э. Творд опубликовал работу об ингибирующем и бактерицидном действии на стафилококки агента неизвестной этиологии, проходящего через бактериальный фильтр.

Д'Эрель не только описал литическое действие фильтра-та испражнений переболевшего дизентерией (просветление бульонной культуры и формирование «стерильных пятен» на агаровой культуре возбудителя), но и успешно применил его

при лечении дизентерии, бубонной чумы в Египте и холеры в Индии. В книге «Бактериофаги» (1922) [4] он описал природу фага и методы его выделения.

В 20–30-е годы прошлого века фаговые препараты широко использовали для терапии гнойно-септических заболеваний, лечения и профилактики кишечных инфекций [5].

В Советском Союзе дизентерийный бактериофаг впервые применили в 1929 г. доктора Мельник и Ручко в Алчевской больнице (Донбасс). Активность бактериофага, приготовленного на штаммах Шига, составляла 10^{12-15} , разовая доза – 5–15 см³. Вслед за быстрым улучшением наступало полное выздоровление в среднем за 2–3 сут вместо 8–10 дней. Фагопрофилактика в период сезонной заболеваемости защищала детей в очаге инфекции. Обширный опыт успешного применения дизентерийного бактериофага в лечении и профилактике бактериальной дизентерии позволил в 1936–1939 гг. официально рекомендовать его в качестве средства борьбы с эпидемиями дизентерии [6].

Бактериофаги применяли наружно, перорально, в виде аэрозолей и клизм при кишечных инфекциях, лечении ран, фурункулеза, термических поражений кожи, флегмон и даже при заражении крови.

По типу взаимодействия с бактериями фаги подразделяют на умеренные и вирулентные (литические).

Умеренные фаги способны к интеграции в геном бактерии в виде профага, встраиваясь в ее хромосому или образуя плазмиду. При размножении бактерии они воспроизводятся, не вызывая ее разрушения. Вирулентные фаги, проникая внутрь бактериальной клетки, переключают ее метаболизм на воспроизведение новых фагов, что завершается лизисом бактерии. Именно вирулентные бактериофаги обладают наибольшим терапевтическим потенциалом.

Главное условие эффективности препаратов бактериофагов – фагочувствительность бактериального возбудителя. Возможность преодоления первичной фагоустойчивости бактерий путем подбора фаговых «рас», активных в отношении целевого бактериального возбудителя, обеспечивает эффективность воздействия препаратов бактериофагов на возбудителей гнойно-воспалительных инфекций.

Исследования на лабораторных животных показали, что бактериофаг, введенный любым способом (внутривенно, перорально, подкожно, внутрибрюшинно), поступает в кровь, затем адсорбируется тканями, оседая в первую очередь в лимфатических узлах, печени и селезенке. Выводится он из организма через кишечник и почки. При наличии инфекции, вызванной бактерией соответствующего вида, увеличиваются длительность пребывания бактериофага в организме и его количество [7, 8]. У здорового человека гематоэнцефалический барьер непроницаем для фагов. Даже слабое его нарушение влечет за собой поступление бактериофага из кровяного русла в ликвор [8, 9].

Исследование динамики выведения бактериофагов у больных с разными формами гнойно-септических инфекций показало, что после перорального приема бактериофага фаговые частицы обнаруживаются через 1 ч в крови, через 1,0–1,5 ч – на поверхности ожоговых ран и в бронхиальном содержимом, через 2 ч – в ликворе и моче.

Длительность пребывания фага в организме и уровень его выхода с мочой зависят от присутствия фагочувствительного возбудителя инфекции. Так, при наличии чувствительного к препарату бактериального штамма фаги выявляли в моче в течение 5–6 сут после однократного приема препарата. При этом высокая концентрация фаговых частиц в образцах мочи

свидетельствовала о процессе их размножения в очаге инфекции. У здоровых людей, как и у больных с фагорезистентным возбудителем, фаг в незначительном количестве выделялся с мочой в первые 2 сут [10].

Вероятность формирования фагоустойчивости практически незначима, так как частота мутаций фагоустойчивости к отдельному фаговому клону чрезвычайно низка. Данные клиники НИИ урологии подтверждают перекрестную активность в отношении фагорезистентных клеток бактериального штамма, устойчивых к отдельным клонам препарата [11]. В клинике НИИ на фоне длительного использования бактериофагов, адаптированных к урологическим штаммам, не наблюдалось формирования фагоустойчивости у циркулирующих госпитальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *P. mirabilis*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp.

Применение бактериофагов в конце 30-х годов резко сократилось в связи с появлением антибиотиков. Этому способствовали также нестабильные результаты фаготерапии, объясняющиеся недостаточным уровнем знаний о биологии фагов, несовершенством условий их производства, хранения и контроля их качества [12].

В 40-е годы фаговая терапия широко применялась в Красной Армии. Во время Великой Отечественной войны бактериофаги чрезвычайно успешно использовались при лечении раненых с тяжелыми гнойными огнестрельными ранами и даже с гангренозными поражениями.

На Западе индустрия антибиотиков в 1950-х годах практически вытеснила фаговые препараты.

СОВРЕМЕННЫЙ ОТЕЧЕСТВЕННЫЙ ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ БАКТЕРИОФАГОВ

В России в отличие от других стран бактериофаги с успехом применяются до сих пор. Эффективность фаготерапии доказана клиническими наблюдениями в хирургии, педиатрии, акушерстве, гинекологии, урологии, оториноларингологии, офтальмологии, в клинике инфекционных болезней.

Эпидемиологическая служба отечественного здравоохранения широко использовала фаговые препараты для профилактики бактериальных инфекций. 70-е годы были периодом высокой заболеваемости новорожденных стафилококковыми инфекциями, и фагопрофилактика носительства *Staphylococcus aureus* у персонала родильных домов, особенно с массивным уровнем его выявления на слизистой носоглотки, значимо снижала заболеваемость новорожденных и родильниц [13].

Высокоэффективной оказалась профилактика бактериофагами брюшного тифа, дизентерии, сальмонеллезов. Так, сезонное применение дизентерийного бактериофага в организованных детских коллективах, среди армейских контингентов снижало заболеваемость бактериальной дизентерией в $\geq 2,5$ раза в сравнении с таковой в группах контроля [14, 15].

Профилактическое использование секстафага (комплекс фагов против стафилококков, стрептококков, *Klebsiella pneumoniae*, протей, синегнойной и кишечной палочки) без антибиотиков у женщин с родоразрешением путем кесарева сечения обеспечило благоприятное течение послеоперационного периода без гнойных осложнений [16].

Внутриматочное введение секстафага в течение 5 дней при хронических эндометритах способствовало очищению полости матки от бактерий в 86,5% случаев [17].

Хорошие результаты получены Н.П. Брашминой и соавт. (1984) [18] при использовании секстафага в лечении энтероколитов у новорожденных. Показана его высокая эффективность при легких и среднетяжелых энтероколитах. При тяжелых язвенно-некротических энтероколитах, сопровождающихся выраженным токсикозом, фаг вводили внутривенно капельно в течение 6–10 ч, что способствовало снижению летальности и сокращало сроки выздоровления. Локализованные формы гнойно-воспалительных заболеваний у новорожденных сопровождаются выраженным дисбактериозом. Г.А. Самсыгина и соавт. успешно применяли секстафаг перорально для профилактики энтероколитов при антибиотикотерапии гнойно-воспалительных заболеваний [19].

Использование секстафага у онкологических больных с послеоперационными гнойно-воспалительными осложнениями давало положительный результат в 81,5% случаев, тогда как антибиотикотерапия — всего в 60,6% наблюдений. При этом заживление ран происходило без образования деформирующих рубцов и на 6 сут быстрее, чем без бактериофагов [20].

Возбудители урологических инфекций отличаются множественной устойчивостью к антибиотикам. Т.С. Перепанова и соавт. [11] применяли бактериофаги с высокой клинической эффективностью (92%). При этом у 85% больных прекращалось выделение возбудителя или его количество в моче снижалось примерно на 3 порядка; для сравнения: при лечении антибиотиками выделение возбудителя прекращалось всего у 35,7% больных.

С 90-х годов в связи со снижением эффективности антибиотиков исследователи все чаще вновь обращаются к бактериофагам как к средствам антибактериальной терапии. Так, Нобелевский лауреат инфекционист Дж. Ледеберг заявил о необходимости возрождения изучения бактериофагов.

Бактериофаги — препараты, наиболее перспективные в решении проблемы инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. В одном из военных госпиталей ликвидирован сальмонеллез, вызванный полиантибиотикорезистентным штаммом *Salmonella typhimurium*. В состав сальмонеллезного бактериофага были включены фаговые расы, высокоактивные в отношении выделенного штамма. Терапия больных сальмонеллезом и носителей (>2500 человек) способствовала полной элиминации внутрибольничного штамма [21]. В 2014 г. Минздравом России изданы Методические рекомендации «Принципы использования бактериофагов для борьбы с инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи».

В настоящее время производство лечебно-профилактических препаратов бактериофагов в промышленных масштабах осуществляется в России и Грузии. В 2010–2011 гг. начато производство бактериофагов на Украине. Фармацевтические компании США, Англии, Израиля, Канады проводят исследования, целью которых являются регистрация и организация выпуска фаговых препаратов для лечения и профилактики инфекций, обусловленных метициллин-резистентными штаммами *S. aureus* (MRSA) и полиантибиотикорезистентными штаммами *P. aeruginosa*.

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ СЕГОДНЯШНЕГО ДНЯ

Российские производители имеют большой опыт разработки и организации производства лечебно-профилактических бактериофагов. Большинство бактериофагов, зарегистрированных еще в 60–80-х годах прошлого

века, востребованы и прошли перерегистрацию. К сожалению, за последнее время в нашей стране не было зарегистрировано новых лечебных препаратов бактериофагов. Прекращен выпуск производившихся ранее бактериофагов в виде суппозиторий, мазей и линиментов, сокращается выпуск монофагов.

Ввиду перспективности использования бактериофагов для лечения и профилактики бактериальных инфекций представляются целесообразными:

- восстановление системы организованного сбора в регионах штаммов возбудителей с последующей их передачей производителю препаратов бактериофагов;
- организация изучения современными методами фаговых штаммов, находящихся в разных коллекциях;
- создание объединенного реестра производственных фаговых штаммов — своего рода прообраза Национального банка бактериофагов — на базе научных учреждений.

Литература

1. Veiga-Crespo P., Barros-Velázquez J. et al. What can bacteriophages do for us. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*. Ed. A. Mendez-Vilas / Spain: Formatex, 2007; V.2: p. 885–93.
2. Rohwer F., Edwards R. The Phage Proteomic Tree: a genome-based taxonomy for phage // *J. Bacteriol.* – 200; 184: 4529–35.
3. Якобсон Л. Современное состояние проблемы бактериофагии 1957. Сб. трудов межинститут. научн. конф. М., 1957. Бактериофагия, т.V, с.19–33.
4. d'Herelle F. Le bacteriophage et son rôle dans l'immunité / Paris: Masson, 1921.
5. Д'Эрель Ф. Бактериофаг и феномен выздоровления / Тифлис, 1935.
6. Мельник М.И., Хастович Р.И. Бактериофаг при дизентерии / Гос. мед. изд-во, 1935.
7. Крестовникова В.А., Губин В.М. Распределение и выделение бактериофага в организме морской свинки при введении его под кожу // *Журн. микробиол., патологии инфекционных болезней.* – 1924; 1 (3–4): 151–6.
8. Сутин И.А. Бактериофаги и их применение в медицинской практике / Сталинград: Областное книгоиздательство, 1947; с. 29–32.
9. Пономарев А.В., Павлов Г.А., Михельсон М.А. Барьерная функция центральной нервной системы и бактериофаг // *Арх. биол. наук.* – 1935; 38 (2): 521–9.
10. Парфенюк Р.Л., Дарбеева О.С., Майская Л.М. и др. Динамика выведения лечебно-профилактических бактериофагов при пероральном приеме. Фундаментальные и прикладные проблемы медицинской биотехнологии. Тезисы докладов международной конференции, посвященной памяти академика РАМН и РАМНТ И.Н. Блохиной. 25–26 апреля 2000 года. Москва, Нижний Новгород, 2000; с. 74.
11. Перепанова Т.С., Дарбеева О.С., Майская Л.М. и др. Эффективность препаратов бактериофагов при лечении воспалительных урологических заболеваний // *Урология.* – 1995; 5: 14–7.
12. Sulakvelidze A., Kutter E. Bacteriophage therapy in humans. In: *Bacteriophages: biology and applications*. Eds. E. Kutter, A. Sulakvelidze / Boca Raton: CRC Press, 2005; p. 381–436.
13. Дарбеева О.С. Использование поливалентного стафилококкового бактериофага для профилактики гнойно-септических заболеваний в акушерских стационарах // *Акт. вопр. эпидемиол. и инфекц. болезней.* – 1981; 8: 158–62.
14. Солодовников Ю.П., Павлова Л.И., Гарнова Н.А. и др. Профилактическое применение сухого поливалентного дизентерийного бактериофага с пектином в детских дошкольных учреждениях. К обоснованию тактики и схемы применения бактериофага в современных условиях // *Микробиология.* – 1971; 2: 123–7.
15. Анпилов Л.И., Прокудин А.А. Профилактическая эффективность сухого поливалентного дизентерийного бактериофага в организованных военных коллективах // *Военно-медицинский журнал.* – 1984; 5: 39–40.
16. Трушков А.Г. Проблемы перинатологии и репродуктивности здоровья / Пермь, 2002; с. 213–5.
17. Меззи Халед, Пардуль М.М., Олина А.А. Опыт применения бактериофагов для лечения хронических неспецифических эндометритов. Материалы 1 Всеросс. науч.-практ. конф. «Здоровье и образование ребенка». Пермь, 2002; с. 248–50.
18. Брашнина Н.П., Самсыгина Г.А., Буслаева Г.Н. Опыт использования пиобактериофага в лечении энтероколитов у новорожденных. Актуальные вопросы бактериофагии и прикладной иммунологии. Мат. Всесоюз. Симпозиума, посв. 60-летию Тб. НИИВС. Тбилиси, 1984; с. 176–7.
19. Самсыгина Г.А., Брашнина Н.П., Буслаева Г.Н. Использование пиобактериофага в профилактике энтероколитов у новорожденных детей. Актуальные вопросы бактериофагии и прикладной иммунологии. Мат. Всесоюз. Симпозиума, посв. 60-летию Тб. НИИВС. Тбилиси, 1984; с. 245–7.
20. Кочеткова В.А., Мамонтов А.С., Московцева Р.Л. и др. Фаготерапия послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений у онкологических больных // *Советская медицина.* – 1989; 6: 23–6.
21. Акимкин В.Г., Покровский В.И. Нозокомиальный сальмонеллез взрослых / М., 2002; 136 с.

THERAPEUTIC AND PROPHYLACTIC BACTERIOPHAGES: THE PAST, THE PRESENT, AND THE FUTURE

O. Darbeeva, Candidate of Medical Sciences; **D. Davydov**, Candidate of Biological Sciences; **L. Mayskaya**, Candidate of Medical Sciences; **R. Parfenyuk**, Candidate of Biological Sciences; **Z. Durmanova**; **Yu. Obukhov**
 Research Center for Examination of Medical Products, Ministry of Health of Russia, Moscow

The paper reviews the history of discovery of bacteriophage preparations and their introduction into health care practice, data on their high therapeutic activity against a broad range of bacterial infections of varying genesis. It gives a concise classification of therapeutic and prophylactic bacteriophages. There is evidence that it is promising to further investigate the use of bacteriophages as an alternative to agents for traditional antimicrobial therapy and prevention of infectious diseases, including those caused by multidrug resistant microorganisms.

Key words: therapeutic and prophylactic bacteriophages, multidrug resistance, nosocomial infections; antimicrobial therapy.