

Сучасні можливості запобігання антибіотикорезистентності: бактеріофаги як антимікробні агенти

О.К. Дуда, В.О. Бойко, Л.П. Коцюбайло, А.П. Голуб

Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, м. Київ

В огляді підкреслено необхідність пошуку альтернативи антибіотикам у лікуванні бактеріальних інфекцій. Обґрунтовано використання та подальший розвиток фаготерапії. Представлено особливості бактеріофагів як антимікробних агентів, їхні переваги та недоліки у порівнянні з антибіотиками. Наведено літературні дані щодо досвіду та сучасних досліджень можливостей фаготерапії різних захворювань та станів. Представлені основні сфери застосування фаготерапії та переваги використання фагових коктейлів у практиці лікарів різних спеціальностей.

Ключові слова: бактеріофаг, фаг, фаготерапія, фагопрепарат, фаговий коктейль.

Антибіотикорезистентність

Відкриття антибіотиків – ключова подія ХХ століття. Антибіотики скоротили смертність, особливо дитячу, від інфекційних захворювань і знизили число постінфекційних ускладнень. Вони прискорили розвиток медицини, сприяли збільшенню середньої тривалості життя населення та підвищенню продуктивності сільського господарства. Це вплинуло на соціально-економічний розвиток суспільства та значною мірою визначило обличчя сучасного світу.

Проте після появи антибіотики одразу почали втрачати свою ефективність. Спостерігається швидке поширення стійких до них бактерій. У звіті, підготовленому під егідою уряду Великобританії у 2016 році, зазначено, що кожен рік у світі 700 тис. осіб помирає від інфекцій, спричинених бактеріями, які стійкі до антибіотиків. Якщо не буде вжито термінових заходів, то до 2050 року ця цифра зросте до 10 млн [49].

Формуванню у бактерій антибіотикорезистентності сприяє їхня висока мінливість [35] і активне використання антибіотиків [49]. Гени стійкості до антибіотиків виникали й в допеніцилінову еру. Так, філогенетичний аналіз β -лактамаз показав, що вони з'явилися не менше мільйона років тому [19]. Однак людська діяльність прискорила процес пристосування бактерій до дії антибіотиків.

У США 80% антибіотиків, що застосовуються, припадають на тваринництво. З них 74% використовуються як добавки до корму худобі. Важко оцінити вплив цієї практики на формування антибіотикорезистентності. Зафіксована передача стійких до антибіотиків бактерій від тварин людині, потрапляння стійких бактерій з ферм у річки через стічні води [51], їхнє перенесення на великі відстані мухами, собаками, дикими птахами [15].

Нераціональне використання антибіотиків у клінічній практиці також робить внесок у формування антибіотикорезистентності. Відповідно до недавнього дослідження, у США у 30% призначення антибіотиків амбулаторним хворим було недоцільним [36]. У країнах, де пацієнт може придбати антибіотик без рецепта лікаря і використовувати його для самолікування, існує висока ймовірність невправного вибору ан-

тибіотика та/або застосування його у дозах нижчих, ніж рекомендовані [28]. Це також підвищує ризик появи стійких штамів збудників.

Проблема антибіотикорезистентності носить глобальний характер. Ген *msc-1*, що забезпечує стійкість *Escherichia coli* до антибіотика резерву колістину, вперше був виявлений у Китаї [16], а вже через рік – у США [17]. Ген *blaNDM-1*, відповідальний за синтез β -лактамази, яка руйнує антибіотики класу карбапенемів, був виділений вперше з *Klebsiella pneumoniae* в Індії у 2009 році [14]. Він швидко поширився країнами Азії і Балканах, а сьогодні виявляється у госпітальних штаммах бактерій по всьому світу [21, 27].

Проблема антибіотикорезистентності ускладнюють труднощі у розробленні та виведенні на ринок нових антибіотиків. Так, якщо у 1983–1987 роках Агентство з контролю лікарських засобів та харчових продуктів США (FDA) схвалило 16 нових антибіотиків, то за період 2008–2012 – тільки два, а 2012–2016 – п'ять [50].

Фармацевтичним компаніям не вигідні інвестиції у розроблення антимікробних препаратів, тому що ці препарати застосовують короткими курсами, їхнє використання у всьому світі намагаються обмежити, їхнє життя на ринку може виявитися нетривалим через поширення стійкості до них.

У 2015 році Всесвітня асамблея охорони здоров'я затвердила глобальний план дій по боротьбі зі стійкістю до протимікробних препаратів. Вона закликала посилити пошук нових методів профілактики та лікування бактеріальних інфекцій [3]. Одним з найбільш розроблених і перспективних напрямків такого пошуку є фаготерапія – лікування бактеріальних інфекцій за допомогою бактеріофагів (фагів) [7].

Біологія фагів

Фаги – це віруси, що вражають бактерії. Ці внутрішньоклітинні паразити розмножуються тільки всередині бактерії-господаря. Фаги специфічні до обмеженого кола бактерій, хоча ступінь їхньої специфічності різна [20]:

- полівалентні фаги вражають бактерії різних видів та родів,
- моновалентні фаги вражають один вид бактерій,
- типові фаги вражають окремі типи всередині виду бактерій.

Фаги – найчисленніша біологічна система у світі. Вони зустрічаються у ґрунті, водоймах, рослинах, у кишечнику людини й тварин тощо. Число фагових частинок перевищує число бактерій у біосфері та складає 10^{30} або більше. Фаги – один з найважливіших природних інструментів контролю чисельності популяцій мікроорганізмів [30].

Морфологія фагів різноманітна. Зустрічаються форми зі спіралеподібним або кубічним типами симетрії, характерними для вірусів тварин і рослин, але більшість відомих фагів поєднує в одній частці обидва типи симетрії: кубічний властивий для голівки, спіралеподібний – для відростка.

Своєрідна будова фагів пояснюється ригідністю клітинної стінки бактерій. Фаги не можуть проникнути у клітину-господаря шляхом піноцитозу або віропексіса, тому в них сформувалися інші способи інфікування, які позначилися на їхньому вигляді [13].

Більшість фагів має голівку діаметром 45–140 нм та хвостовий відросток товщиною до 40 нм і довжиною до 200 нм. Голівка може бути ікосаедричною, сферичною, лимоноподібною або плеоморфною, являє собою щільно скручену нитку ДНК (рідше РНК), оточену білковою або ліпопротеїновою оболонкою. Хвостовий відросток – порожня білкова трубка (стрижень), оточена в деяких фагів чохлам, який побудований зі скорочувальних білків та здатний скорочуватися, оголюючи частину трубки. На кінці відростка у фагів розташована гексагональна базальна пластинка з кількома шпилькоподібними виростами та тонкими довгими нитками, за допомогою яких фаг розпізнає специфічні рецептори бактерії та прикріплюється до них [13].

За характером взаємодії з бактеріями розрізняють вірулентні (літичні) та помірні (лізогенні) фаги. Вірулентні фаги викликають загибель (лізис) інфікованої бактерії, тоді як помірні можуть існувати у клітці в латентній формі. Фаги прикріплюються до фагоспецифічного рецептора на поверхні бактеріальної клітини, в якості якого можуть виступати компоненти пептидоглікана та тейхоевих кислот клітинної стінки грампозитивних бактерій або полісахариди та білки зовнішньої мембрани грамнегативних бактерій, а також білки капсул, статевих пілей, джгутиків [9, 13].

Літичні фаги після адсорбції у чохла відростка вивільняють іони кальцію, що активують фермент АТФаза. Це викликає скорочення чохла, стрижень відростка проштовхується крізь зовнішню мембрану бактерії, лізоцим фага розчиняє пептидоглікан клітинної стінки, ДНК фага впрорскується у клітину. ДНК фага спричиняє повну перебудову метаболізму бактерії, припиняється синтез її власних ДНК, РНК та білків. ДНК фага транскрибується, мРНК надходить на рибосоми бактерії, де відбувається синтез фагових білків: спочатку створюються ДНК-полімерази та нуклеази для реплікації фагової ДНК, а потім – білки фагового капсула, відростка, базальної пластинки тощо. Синтезовані ДНК та білки фага об'єднуються, утворюючи фагові частинки, після чого відбувається лізис клітини-господаря та зрілі фаги виходять у середовище. Кількість віріонів, що виходять з однієї бактерії, залежить від виду фага і може сягати тисячі. Тривалість процесу – від адсорбції фага до виходу його нащадків із бактерії – може становити від декількох хвилин до декількох годин [13].

Лізогенні фаги можуть проходити літичний цикл та призводити до загибелі бактерій, а можуть вступати з останніми в симбіоз. Вони проникають у клітину так само, як і вірулентні. Після цього ДНК фага вбудовується в хромосому бактерії або підтримується в клітині у вигляді плазмиди. У першому випадку ДНК фага реплікується разом із геномом бактерії та передається дочірнім клітинам [44].

Таку взаємодію називають лізогенією, а культуру бактерій, що містить ДНК помірною фага (профага), – лізогенною. Лізогенна культура, завдяки профагу, може змінювати властивості: культуральні, біохімічні, токсигенні, антигенні, чутливість до антибіотиків та ін. Лізогенні культури стають непридатні до повторного зараження фагом, спорідненим із їхнім профагом. Під дією низки факторів (наявність поживних речовин у середовищі, стрес тощо) може відбуватися лізогенна індукція – профаг переходить із латентної у вірулентну форму. При цьому він виключається з хромосоми і в цитоплазмі бактерії ініціює літичний цикл, що призводить до виходу нових вірусних частинок і загибелі клітини-господаря. Залишаючи хромосому бактерії, профаг може захопити

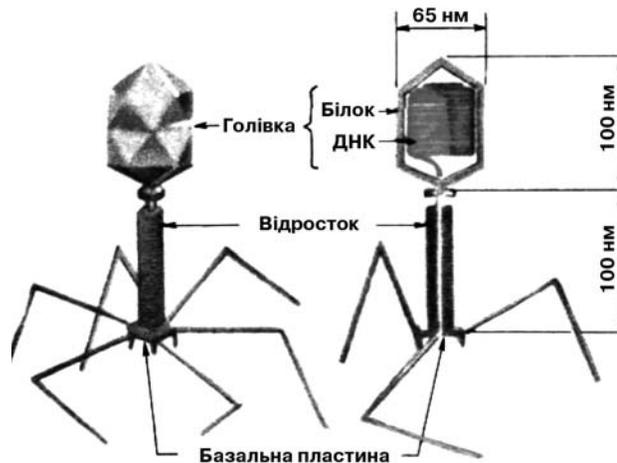


Схема будови бактеріофага

її частину. Так бактеріальні гени можуть потрапити у нащадків фага та разом з ними – в інші клітини бактерій. Забезпечуючи перенесення генетичної інформації від однієї бактерії іншій, фаги відіграють важливу роль у мінливості та еволюції мікроорганізмів [6].

У фаготерапії можуть бути використані виключно вірулентні фаги. Лізогенні зазвичай не викликають загибелі бактерії та можуть призводити до переносу генів, що беруть участь у патогенності бактерій, та таких, що зумовлюють їхню резистентність до антибіотиків [13, 33].

Для успішної фаготерапії необхідним є створення достатньої концентрації специфічних фагів у безпосередній близькості від вогнища інфекції [11].

Питання безпеки застосування фагів

Бактеріофаги можуть вражати виключно прокаріотичні клітини та не взаємодіють із клітинами еукаріотів. З моменту відкриття бактеріофагів зібрано великий об'єм даних, що демонструють відсутність несприятливих ефектів та безпеку фагопрепаратів для людини [24]. У Східній Європі та країнах колишнього СРСР застосування фагопрепаратів не припинялося з 30-х років ХХ століття. Хоча дизайн проведених в цих країнах досліджень не відповідав сучасним стандартам клінічних випробувань, висновки про безпеку фаготерапії підтверджуються постійним впливом на організм людини високих рівнів бактеріофагів у зв'язку з їхньою широкою присутністю у навколишньому середовищі [4].

З урахуванням цього, у США та Європі низка фагових препаратів для застосування у сільському господарстві та харчовій промисловості були класифіковані як «загальноновизнані безпечними» (Generally recognized as safe – GRAS) [45].

В огляді підсумовано досвід застосування фагів у дітей, зокрема немовлят з перших днів життя, та зроблено висновки про безпеку фагопрофілактики та фаготерапії у педіатричній практиці [10].

Безпеку фагопрепаратів, зокрема у дітей, підтверджують також дослідження, проведені в період з 2000 року в країнах Європи і США відповідно до діючих міжнародних стандартів [12, 18, 29].

Особливості фагів у порівнянні з антибіотиками

Серед причин, через які фаги доцільно розглядати як одну з альтернатив антибіотикам, слід відзначити такі [11]:

- **Бактерицидна дія.** Фаги вбивають чутливі до них бактерії на відміну від деяких антибіотиків (наприклад, тетрацикліну), які справляють бактериостатичну дію.

- **Здатність до «самодозування».** У ході літичного циклу фаги збільшують свою чисельність. Чим більше у вогнищі інфекції чутливих бактерій, тим більше їх буде інфіковано фагами, тим вище стане концентрація фагів. При знищенні усіх чутливих бактерій у вогнищі поступово знижується концентрація фагів. Здатність фагів до «самодозування» дозволяє використовувати фагопрепарати у відносно низьких дозах, що знижує потенційні ризики і вартість лікування [33].

- **Низька токсичність.** Низька токсичність фагів підтверджена в численних дослідженнях на тваринах [4]. Важливою умовою безпеки фагопрепаратів є їхнє ретельне очищення від компонентів бактерій і поживного середовища, які теоретично можуть бути токсичними і/або викликати анафілактичні реакції.

- **Мінімальний вплив на нормальну мікрофлору.** Завдяки тому, що дія фагів вузькоспецифічна, вони не впливають на нормальну симбіотичну мікрофлору людини. Антибіотики, навпаки, можуть викликати порушення її складу, призводити до розвитку суперінфекцій *C. difficile* або *Candida albicans*.

- **Нижча, ніж у антибіотиків ймовірність індукувати у бактерій резистентність.** Висока специфічність фагів обмежує число видів бактерій, які можуть формувати стійкість. При застосуванні антибіотиків діапазон бактерій, які піддаються селекції на стійкість, значно ширший.

- **Відсутність перехресної стійкості з антибіотиками.** У зв'язку з тим, що механізми антимікробної дії фагів і антибіотиків розрізняються, стійкість бактерії до антибіотиків не передбачає їхньої стійкості до фагів. Тому фаги доцільно використовувати для знищення бактерій із множинною стійкістю до антибіотиків, наприклад MRSA.

- **Активність проти біоплівки.** Бактерії у біоплівках зазвичай більш стійкі до дії антибіотиків, ніж вільні. Фаги здатні руйнувати біоплівки.

- **Стимуляція специфічних та неспецифічних механізмів імунного захисту.**

- **Можливість комбінації з іншими лікарськими засобами, у тому числі з антибіотиками.**

- **Здатність проникати через гематоенцефалічний бар'єр.** Фаги можуть бути використані для лікування інфекційних захворювань центральної нервової системи.

- **Відносна легкість у створенні нових фагопрепаратів.** Виділити новий фаг, специфічний до тієї чи іншої бактерії, зазвичай нескладно та недорого: часто вони виявляються у стічних водах або інших середовищах, багатих на бактерії. Складність подальших етапів розроблення фагопрепарату залежить від можливостей культивування бактерії-мішені в умовах лабораторії. Пошук нових антибіотиків – це завжди складне та дорогівартісне завдання.

Досвід застосування фаготерапії

Кишкові інфекції

Досвід фаготерапії шигельозу, сальмонельозних та інших кишкових інфекцій підсумовано N. Chanishvili та співавторами [24], де підкреслено важливість високої концентрації активних фагів у препараті, нейтралізації кислого шлункового соку перед вживанням фагів для уникнення нейтралізації останнього, а також важливість якомога більш раннього початку фаготерапії.

Існують дані про успішне застосування фаготерапії з метою профілактики шигельозу у солдатів і населення у період Другої світової війни та після неї. Зокрема, в республіках Середньої Азії фагопрофілактика дозволяла знизити захворюваність на шигельоз у 10 разів [23].

Масштабне плацебо-контрольоване дослідження фагопрофілактики шигельозу було проведено у Тбілісі за участю більш ніж 30 тис. дітей. У групі дітей, які отримували фаги, кількість хворих на шигельоз була у 3,8 разу нижче,

ніж в контрольній групі [2]. Аналогічні результати були отримані при фагопрофілактиці сальмонельозних інфекцій у дітей. У Грузії препарат Інтестіфаг, що містить фаги, які лізують різні види шигел, сальмонел, протей, кишкову та синьогнійну палички, золотистий стафілокок тощо, рутинно застосовують для профілактики госпітальних кишкових інфекцій, насамперед, у дитячих лікувальних установах.

На ранніх етапах вивчення фагів були випробувані препарати, які лізують збудника холери – *Vibrio cholera* [47]. Протихолерний фагопрепарат використовували для лікування хворих та знезараження колодязів в Індії. Випробування проходили настільки успішно, що влада наказала негайно розпочати лікування фагами пацієнтів контрольної групи. Усі хворі пройшли фаготерапію, але дослідження не було завершено і тому так і не стало основою нових державних підходів до профілактики та лікування холери.

Інфекції дихальних шляхів

Практика фаготерапії бактеріальних інфекцій дихальних шляхів підсумована в оглядах S. Slopek та співавторів [37, 38]. У всіх випадках штами вірулентних фагів підбирали індивідуально, у ході лікування контролювали фагогочувливість збудників та при розвитку у бактерії стійкості фагопрепарати оновлювали. У роботі S. Slopek та співавторів [37] наведено дані щодо ефективності фаготерапії гнійних риніту, синуситу, бронхіту та ангіни, що рецидивує, спричинених *Staphylococci*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* та/або *Proteus*, які не відповідають на антибіотикотерапію. Фагопрепарати призначали тричі на день перорально, а також використовували для полоскання горла та закапування у ніс. У 91,9% випадків гнійний процес було зупинено. При гнійних бронхопневмонії та пневмонії, викликаних *Staphylococci*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, які не відповідали на терапію антибіотиками, також призначали фагопрепарати тричі на день перорально. У 82,5% випадків спостерігали одужання, у решти – поліпшення стану.

У 2017 році були опубліковані результати доклінічного дослідження, яке підтвердило ефективність фаготерапії хронічного запалення легенів, викликаного мультирезистентним *P. aeruginosa* [32].

Пошуку оптимальних методів фаготерапії гострих респіраторних інфекцій, спричинених *P. aeruginosa*, присвячено дослідницький проект «Pneumophage». У роботі E. Bodier-Montagutelli та співавторів [22] обговорюється доцільність та технічні можливості створення фагопрепаратів для інгаляційного введення.

Ураження шкіри

Лікування бактеріальних уражень – напрямок фаготерапії, який у західних країнах цей розвивається найдинамічніше [33]. У дослідженні S. Slopek та співавторів [37] описаний досвід лікування виразок і запалень, що виникли на фоні варикозної хвороби (позитивний результат – 75%), захворювань шкіри і підшкірних тканин, зокрема фурункулів, запалення лімфатичних судин і пролежнів (позитивний результат – 95%). У збірці N. Chanishvili та співавторів [24] описано лікування фагопрепаратами глибоких форм дерматиту (фурункульоз, абсцес, гідраденіт): після очищення вогнища від гною та визначення фагогочувливості збудників фаг вводили у порожнину вогнища та прилеглі ділянки (внутрішньошкірні або підшкірні ін'єкції) у дозі 0,5 мл, збільшуючи дозу залежно від відповіді. При аналізі даних 6 тис. пацієнтів показано, що загоєння відбувалося протягом 4–8 днів; 70–100% пацієнтів одужали; біль зникла після 1–2 ін'єкцій; внутрішньошкірні ін'єкції були ефективніші, ніж підшкірні.

У 2008 році у США завершилася перша фаза клінічних випробувань фагопрепарату для лікування хронічних трофічних виразок на ногах (NCT00663091) [12]. У ході проспективного подвійного сліпого рандомізованого контрольованого клінічного дослідження було показано, що фаговий коктейль з восьми фагів, що лізують *P. aeruginosa*, *S. aureus* і *E. coli*, при топичному застосуванні не чинить значних побічних дій.

Рани та опіки

Профілактика інфекції – одне з головних завдань у лікуванні ран. Значний досвід був отриманий у роки Другої світової війни, коли поранені солдати радянської армії з метою профілактики інфекційної гангрені отримували фаги, які лізують бактерії роду *Clostridium*. В одному з досліджень захворюваність гангреною серед солдатів, які отримали фаги, була втричі нижчою, ніж серед солдатів, які не пройшли фагопрофілактики [24].

S. Slopek та співавтори використовували оброблення фагами для профілактики ранових інфекцій і зафіксували позитивний результат у 90,8% випадків [37].

В. Weber-Dabrowska та співавтори повідомили про лікування фагами 49 пацієнтів з опіковими ранами, інфікованими *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli*, *Klebsiella* та/або *Proteus*. У всіх випадках штами вірулентних фагів підбирали індивідуально, у ході лікування контролювали фагочутливість збудників та при виявленні стійкості фагопрепарат оновлювали. Сорок два пацієнти повністю одужали, а стан інших семи у результаті фаготерапії помітно покращився [52].

У 2007–2008 роках було проведено невелике дослідження у Бельгії в опіковому центрі Queen Astrid Military Hospital [18]. У ньому взяли участь 9 пацієнтів з опіковими ранами, інфікованими *P. aeruginosa* і/або *S. aureus* з множинною стійкістю до антибіотиків. Рани обробляли фагопрепаратом проти відповідних мікроорганізмів. Дизайн дослідження, на думку авторів, не дозволив зробити висновки щодо ефективності фагопрепарату, проте було показано його безпеку та відсутність побічної дії.

На сьогодні дослідники планують провести I–II фази клінічних випробувань (NCT02116010) у рамках дослідницького проекту «Phagoburn», що фінансується Єврокомісією. Мета проекту – оцінювання ефективності фаготерапії опікових ран, інфікованих *E. coli* та *P. aeruginosa*.

Метицилін-резистентний золотистий стафілокок (MRSA)

MRSA – це будь-який штам золотистого стафілокока, стійкий до великої кількості антибіотиків. MRSA – найбільш поширений мультирезистентний збудник госпітальних інфекцій в Європі [26]. Тому застосування антистафілококових фагів для лікування MRSA має велике клінічне значення. Стійкість MRSA до фагів практично не фіксується, що свідчить про те, що рецептори на поверхні *S. aureus*, які розпізнаються фагами, відіграють важливу роль у життєдіяльності бактерії. Показана також здатність фагів знижувати *S. aureus* у біоплівках [8].

У Тбілісі в Інституті бактеріофагів у 80-х роках XX століття була розроблена низка фагопрепаратів для системного застосування, які лізують *S. aureus*; у тестах на здорових добровольцях препарати не викликали побічних дій. Терапевтичний ефект антистафілококових препаратів випробували на 653 пацієнтах, він був особливо виражений у дітей та пацієнтів з імунodefіцітами [46]. Методи фаготерапії стафілококових інфекцій у дорослих та дітей розроблялися та успішно застосовувалися у Польщі [43–48].

Рекомендовано використовувати гель, що містить коктейль фагів, які лізують MRSA, для санації слизової

оболонки носа у носіїв MRSA [25]. Запропоновано ефективний метод очищення рук від *S. aureus* в медичних установах шляхом миття розчином Рінгера, що містить специфічні фаги [34].

Дослідження ефективності санації носіїв *S. aureus* різними комерційними фагопрепаратами проводили в Україні [1].

Важкодоступні вогнища інфекції

Деякі хвороби важко піддаються лікуванню антибіотиками через обмежений доступ препаратів до вогнища інфекції через порушення кровообігу в зоні ураження, наявність гематоенцефалічного бар'єру, утворення біоплівок тощо. Серед таких захворювань – остеомієліт, діабетична стопа, опіки, інфекції центральної нервової системи. У цих випадках фаги, яким притаманна висока проникна здатність, можуть бути ефективнішими за антибіотики [31].

Про успішну фаготерапію гнійних артритів, оститів та менінгітів повідомляє S. Slopek зі співавторами [37]. У Грузії хронічний остеомієліт є показанням для призначення фаготерапії.

Розробленню нових методів лікування з використанням фагів інфекцій кісток та суглобів, а також діабетичної стопи присвячено дослідницький проект «Phosa». Заплановано клінічне випробування (NCT02664740) методу фаготерапії діабетичної стопи з ранами, інфікованими *S. aureus*.

Хвороби очей

Представлений звіт про дослідження фагового коктейлю, який лізує найпоширеніші гноєрідні бактерії та успішно застосовується для лікування бактеріального кератиту та гнійних виразок рогівки шляхом інстиляції розчину фага в кон'юнктивальний мішок. У пацієнтів, які отримували фаги, присутні наступні ознаки: запалення та біль зникали швидше, ніж у пацієнтів, які отримували антибіотик гентаміцин. У перших повне одужання наступало в середньому через 11 днів після початку лікування, у других – через 15 днів.

У тому самому збірнику описано лікування препаратами фагів бактеріального кон'юнктивіту у дітей. Збудник був стійкий до низки антибіотиків. Крім того, усім пацієнтам у зв'язку з алергічними реакціями була протипоказана антибіотикотерапія. Лікування фагами сприяло поліпшенню клінічної картини на третій день і одужанню – на сьомий [24].

Отити

Хронічні отити, спричинені *P. aeruginosa*, часто не піддаються лікуванню антибіотиками у зв'язку зі стійкістю збудника. Полівалентний фагопрепарат для місцевого застосування, що лізує *P. aeruginosa*, успішно пройшов доклінічні [48], а потім і клінічні випробування (фаза 1/2а як засіб лікування хронічного отиту) [5]. В учасників, які отримали фагопрепарат у формі вушних крапель мікродозами, фіксували мікробіологічне поліпшення і зменшення симптомів захворювання. Побічні ефекти були відсутні.

ВИСНОВКИ

Фаготерапія – одна з можливих альтернатив антибіотикотерапії. Фагопрепарати насамперед можуть бути рекомендовані в наступних випадках:

- для лікування інфекцій, стійких до антибіотиків;
- для лікування бактеріальних інфекцій, важкодоступних для антибіотиків (остеомієліт, діабетична стопа, інфекції в біоплівках та ін.);
- для лікування пацієнтів, яким протипоказана або небажана антибіотикотерапія через алергічні реакції, захворювання травної системи, ризик інфекції *C. difficile* тощо.

Для забезпечення ефективності та безпеки терапії фагопрепарати повинні відповідати наступним вимогам:

- для фаготерапії можуть бути використані виключно літичні фаги;
- біологія та специфічність усіх фагів у складі фагопрепарату повинна бути досконало вивчена;
- фаговий препарат повинен бути очищений від бактерій та їхніх компонентів (білків, ДНК, органел) для виключення токсичних та алергічних реакцій у разі застосування препарату;
- фагопрепарат повинен бути тестований на тваринних моделях, тому що літична активність фагів *in vitro* не завжди відповідає активності *in vivo*;
- технологія приготування комерційних фагопрепаратів повинна передбачати постійний контроль спектра їхньої антибактеріальної активності та оновлення фагового складу для адаптації до циркулюючих штамів патогенних бактерій;
- виробництво фагопрепаратів має відповідати стандартам GMP.

Склад фагових коктейлів зазвичай відображає етіологію тієї чи іншої групи бактеріальних захворювань – гнійних, кишкових та ін. Розширений спектр дії забезпечує ефек-

тивність фагових коктейлів при поліетиологічних інфекціях; знижує ризик розвитку у патогенної бактерії фагостійкості (бактерію знищить не той, так інший штам фагів); дозволяє без зволікань почати лікування, не чекаючи результатів бактеріологічного аналізу.

Таким чином, висока специфічність фагів забезпечує безпеку їхнього застосування. Одночасно ця властивість ускладнює вибір ефективного препарату в конкретному клінічному випадку. Індивідуальний підхід, що передбачає виділення у пацієнта збудника, селекцію активних фагів та виготовлення персонального фагопрепарату, вимагає організації спеціальних мікробіологічних лабораторій при лікувальних установах. На сьогодні така стратегія не представляється реальною. Тому для розширення терапевтичних можливостей фаготерапії доцільним є застосування фагових коктейлів – препаратів, що містять набір фагів, які лізують різні види/штами бактерій. Серійне виготовлення фагових коктейлів на сертифікованих фармацевтичних виробництвах гарантує їхню якість та дотримання сучасних вимог до біопрепаратів.

Современные возможности предотвращения антибиотикорезистентности: бактериофаги как антимикробные агенты

А.К. Дуда, В.А. Бойко, Л.П. Коцюбайло, А.П. Голуб

В обзоре подчеркнута необходимость поиска альтернативы антибиотикам в лечении бактериальных инфекций, обосновано применение и дальнейшее развитие фаготерапии. Представлены особенности бактериофагов как антимикробных агентов, их преимущества и недостатки по сравнению с антибиотиками. Приведены литературные данные об опыте и современных исследованиях возможностей фаготерапии различных заболеваний и состояний. Сделан вывод об основных сферах использования фаготерапии и преимуществах применения фаговых коктейлей в практике врачей разных специальностей.

Ключевые слова: бактериофаг, фаг, фаготерапия, фагопрепарат, фаговый коктейль.

Modern possibilities to prevent antibiotic resistance: bacteriophages as antimicrobial agents

A.K. Duda, V.A. Boyko, L.P. Kotsybaylo, A.P. Golub

The review brings into focus a necessity of search of an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial infections. Practical use and further development of phage therapy are grounded. Special features of the bacteriophages as antimicrobial agents as well as their advantages and limitations in comparison with antibiotics are presented. Literature data about the experience as well as modern studies of the phage therapy of various diseases and states are analysed. Main fields of the phage therapy application are proposed and advantages of the phage cocktails in the practice of medical specialists are concluded.

Key words: bacteriophage, phage, phage therapy, phage preparation, phage cocktail.

Сведения об авторах

Дуда Александр Константинович – Кафедра инфекционных болезней Национальной медицинской академии последипломного образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9. E-mail: duda.doc.med@gmail.com

Бойко Валентина Александровна – Кафедра инфекционных болезней Национальной медицинской академии последипломного образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9

Коцюбайло Любовь Петровна – Кафедра инфекционных болезней Национальной медицинской академии последипломного образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9

Голуб Алла Петровна – Кафедра инфекционных болезней Национальной медицинской академии последипломного образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Альтернативний засіб санації резидентних носіїв золотистого стафілокока / Коцар О.В., Кочнева О.В., Долгова Т.С., Малюченко А.Ю. // Інфекційні хвороби. – 2016. – Т. 2. – С. 54–57.
2. Бабалова Г.Г. О профилактическом значении дизентерийного сухого бактериофага / Г.Г. Бабалова, К.Т. Кацитадзе, Л.А. Сакварелидзе // Журн. микробиол. – 1968. – № 2. – С. 143–145.
3. Глобальный план действий по борьбе с устойчивостью к противомикробным препаратам [Электронный ресурс]: Всемирная организация здравоохранения, 2016 г. Режим доступа: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/254884/1/9789244509760-rus.pdf?ua=1>
4. Жмійко П.Г. Бактеріофаги: актуальні питання безпечного застосування (огляд літератури) / П.Г. Жмійко, О.В. Федченко, М.Л. Зінов'єва // Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки. – 2015. – № 3. – С. 71–81.
5. A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*; a preliminary report of efficacy / A. Wright, C.H. Hawkins, E.E. Anggerd, D.R. Harper // Clin Otolaryngol. – 2009. – Vol. 34. – P. 349–357.
6. Abedon S.T. Phages, Ecology, Evolution / S.T. Abedon // In: Bacteriophage Ecology: Population Growth, Evolution, and Impact of Bacterial Viruses. Ed.: Abedon S.T. – Cambridge University Press, 2008. – P. 1–28.
7. Alternatives to antibiotics – a pipeline portfolio review / L. Czaplewski, R. Bax, M. Clokie, et al. // Lancet Infect Dis. – 2016. – Vol. 16, N 2. – P. 239–251.
8. Antibacterial and biofilm removal activity of a podoviridae *Staphylococcus aureus* bacteriophage SAP-2 and a derived recombinant cell-wall-degrading enzyme / J.S. Son, S.J. Lee, S.Y. Jun, et al. // Appl Microbiol Biotechnol. – 2010. – Vol. 86. – P. 1439–1449.
9. Bacteriophage receptors, mechanisms of phage adsorption and penetration into host cell / D.V. Rakhuba, E.I. Kolomiets, E.S. Dey, G.I. Novik // Pol. J. Microbiol. – 2010. – Vol. 59, N 3. – P. 145–155.
10. Bacteriophage therapy in children: Facts and prospects / W. Fortuna, R. Miedzobrodzki, B. Weber-Dniewska, A. Górski // Med Sci Monit. – 2008. – Vol. 14, N 8. – P. 126–132.
11. Bacteriophage therapy – Looking back in to the future / S.R. Patel, A.K. Verma, V.C. Verma et al. // In: The Battle Against Microbial Pathogens:

- Basic Science, Technological Advances and Educational Programs. Ed.: A. Méndez-Vilas. – Badajoz (Spain): Formatec Microbiology Series N 5, 2015. – Vol. 1. – P. 284–294.
12. Bacteriophage therapy of venous leg ulcers in humans: results of a phase I safety trial / D.D. Rhoads, R.D. Wolcott, M.A. Kuskowski, et al. // *J Wound Care*. – 2009. – Vol. 18. – P. 237–238.
13. Bacteriophages and its applications: an overview / S. Sharma, S. Chatterjee, Sio Datta, et al. // *Folia Microbiol (Praha)*. – 2017. – Vol. 62, N 1. – P. 17–55.
14. Characterization of a new metallo- β -lactamase gene, blaNDM-1, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India / D. Yong, M.A. Toleman, C.G. Giske, et al. // *Antimicrob Agents Chemother*. – 2009. – Vol. 53, N 12. – P. 5046–5054.
15. Comprehensive resistome analysis reveals the prevalence of NDM and MCR-1 in Chinese poultry production / Y. Wang, R. Zhang, J. Li et al. // *Nature Microbiology*. – 2017. – N 2. – pii.16260.
16. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism mcr-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study / Y.Y. Liu, Y. Wang, T.R. Walsh, et al. // *Lancet Infect Dis*. – 2016. – Vol. 16, N 2. – P. 161–168.
17. *Escherichia coli* harboring mcr-1 and blaCTX-M on a novel IncF plasmid: First report of 2 mcr-1 in the USA / P. McGann, E. Snesrud, R. Maybank, et al. // *Antimicrob. Agents Chemother*. – 2016. – Vol. 60, N 7. – P. 4420–4421.
18. Experimental phage therapy of burn wound infection: difficult first steps / T. Rose, G. Verbeken, D. De Vos, et al. // *Int. J. Burn Trauma*. – 2014. – Vol. 4, N 2. – P. 66–73.
19. Hall B.G. Independent origins of subgroup BI + B2 and subgroup B3 metallo- β -lactamases / B.G. Hall, S.J. Salipante, M. Barlow // *J MolEvol*. – 2004. – Vol. 59, N 1. – P. 133–141.
20. Hyman P. Bacteriophage host range and bacterial resistance / P. Hyman, ST Abedon // *Adv. Appl. Microbiol*. – 2010. – Vol. 70. – P. 217–248.
21. IMP-Producing Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in the United States / B.M. Limbago, J.K. Rasheed, K.F. Anderson et al. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2011. – Vol. 49, N 12. – P. 4239–4245.
22. Inhaled phage therapy: a promising and challenging approach to treat bacterial respiratory infections / E. Bodier-Montagutelli, E. Morello, G. L'Hostis, et al. // *Expert Opinion on Drug Delivery*. – Nov 2016. – P. 1–14.
23. Kutter E.M. Bacteriophage therapy: past and present / E.M. Kutter // In: *Encyclopedia of Microbiology*. Ed.: M. Schaecter. – Oxford: Elsevier, 2009. – P. 258–266.
24. Literature Review of the Practical Application of Bacteriophage Research / Eds.: N. Chanishvili, R.A. Sharp – Tbilisi, Georgia: Eliava Institute, 2009. – 184 p.
25. Mann N.H. The potential of phages to prevent MRSA infections / N.H. Mann // *Res Microbiol*. – 2008. – Vol. 159. – P. 400–405.
26. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe / R. Köck, K. Becker, B. Cookson et al. // *Euro Surveill*. – 2010. – Vol. 15, N 41. – P. 19688.
27. New Delhi metallo- β -lactamase around the world: an eReview using Google Maps / M. Berrazeg, S. Diene, L. Medjahed, et al. // *Euro Surveill*. – 2014. – Vol. 19, N 20. – pii.20809.
28. Non-prescription antimicrobial use worldwide: a systematic review / D.J. Morgan, I.N. Okeke, R. Laxminarayan, et al. // *Lancet Infect Dis*. – 2011. – Vol. 11, N 9. – P. 692–701.
29. Oral application of *Escherichia coli* bacteriophage: safety tests in healthy and diarrheal children from Bangladesh / S.A. Sarker, B. Berger, Y. Deng, S. Kieser, et al. // *Environ Microbiol*. – 2017. – Vol. 19, N 1. – P. 237–250.
30. Phage-Host interaction: an ecological perspective / S. Chibani-Chennoufi, A. Bruttin, M.-L. Dillmann, H. Brüßow // *J. Bacteriol*. – 2004. – Vol. 186, N 12. – P. 3677–3686.
31. 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.
32. Phage therapy is highly effective against chronic lung infections with *Pseudomonas aeruginosa* / E.M. Waters, D.R. Neill, B. Kaman, et al // *Thorax*. – 2017. – Vol. 72. – P. 666–667.
33. Phage treatment of human infections / S.T. Abedon, S.J. Kuhl, B.G. Blasdel, E.M. Kutter // *Bacteriophage*. – 2011. – Vol. 1, N 2. – P. 66–85.
34. Potential of the polyvalent anti-*Staphylococcus* bacteriophage K for control of antibiotic-resistant staphylococci from hospitals / S. O'Flaherty, R.P. Ross, W. Meaney, et al. // *Appl Environ Microbiol*. – 2005. – Vol. 71. – P. 1836–1842.
35. Pray L. Antibiotic resistance, mutation rates and MRSA / L. Pray // *Nature Educ*. – 2008. – Vol. 1, N 1. – P. 30.
36. Prevalence of inappropriate antibiotic prescriptions among US ambulatory care visits 2010–2011 / K.E. Fleming-Dutra, A.L. Hersh, D.J. Shapiro et al. // *JAMA*. – 2016. – Vol. 315, N 17. – P. 1864–1873.
37. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections in the years 1981–1986 / S. Slopek, B. Weber-Dabrowska, M. Dabrowski, A. Kucharewicz-Krukowska // *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. – 1987. – Vol. 35. – P. 569–583.
38. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections. I. General evaluation of the results / Slopek S, Durlakova I, Weber-Dabrowska B, et al. // *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. – 1983. – Vol. 31. – P. 267–291.
39. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections. II. Detailed evaluation of the results / S. Slopek, I. Durlakova, B. Weber-Dabrowska, et al. // *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. – 1983. – Vol. 31. – P. 293–327.
40. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections. III. Detailed evaluation of the results obtained in further 150 cases / S. Slopek, I. Durlakova, B. Weber-Dabrowska, et al. // *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. – 1984. – Vol. 32. – P. 317–335.
41. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections. IV. Evaluation of results obtained in 370 cases / S. Slopek, A. Kucharewicz-Krukowska, B. Weber-Dabrowska, M. Dabrowski // *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. – 1985. – Vol. 33. – P. 219–240.
42. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections. V. Evaluation of the results obtained in children / S. Slopek, A. Kucharewicz-Krukowska, B. Weber-Dabrowska, M. Dabrowski // *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. – 1985. – Vol. 33. – P. 241–259.
43. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections. VI. Analysis of treatment of suppurative staphylococcal infections / S. Slopek, A. Kucharewicz-Krukowska, B. Weber-Dabrowska, M. Dabrowski // *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. – 1985. – Vol. 33. – P. 261–273.
44. Salmond G.P.C. A century of the phage: past, present and future / G.P.C. Salmond, P.C. Fineran // *Nature Reviews Microbiology*. – 2015. – Vol. 13. – P. 777–786.
45. Strydom A. *Listeria monocytogenes*: A Target for Bacteriophage Biocontrol / A. Strydom, C.R. Witthuhn // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. – 2015. – Vol. 14, N 6. – P. 694–704.
46. Sulakvelidze A. Bacteriophage therapy in humans / A. Sulakvelidze, E. Kutter // In: *Bacteriophages: Biology and Application*. Eds.: E. Kutter, A. Sulakvelidze. – Boca Raton, FL: CRC Press, 2005. – P. 381–436.
47. Summers W.C. Cholera and plague in India: the bacteriophage inquiry of 1927–1936 / W.C. Summers // *J Hist Med Allied Sci*. – 1993. – Vol. 48, N3. – P.275-301.
48. Topical treatment of *Pseudomonas aeruginosa* otitis of dogs with a bacteriophage mixture: A before/after clinical trial / C. Hawkins, D. Harper, D. Burch, et al. // *Vet Microbiol*. – 2010. – Vol. 146. – P. 309–313.
49. The Review on Antimicrobial Resistance. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations [Электронный ресурс] / Ed: Jim O'Neill // UK Government and Wellcome Trust, 2016. Режим доступу: https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf
50. US Food and Drug Administration. 2014 Summary report on antimicrobials sold or distributed for use in food-producing animals [Электронный ресурс] / Food and Drug Administration Department of Health and Human Services, December, 2015. Режим доступу: <http://www.fda.gov/downloads/ForIndustry/UserFees/AnimalDrugUserFeeActADUFA/UCM476258.pdf>
51. Waste water effluent contributes to the dissemination of CTX-M-15 in the natural environment / G.C.A. Amos, P.M. Hawkey, W.H. Gaze, E.M. Wellington // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2014. – Vol. 69. – P. 1785–1791.
52. Weber-Dabrowska B. Bacteriophage therapy of bacterial infections: an update of our institute's experience / B. Weber-Dabrowska, M. Mulczyk, A. Górski // *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. – 2000. – Vol. 48. – P. 547–551.

Статья поступила в редакцию 26.07.17