

РАЗРАБОТКА НОВЫХ ПРЕПАРАТОВ БАКТЕРИОФАГОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГНОЙНО – ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ И ЭНТЕРАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗВАННЫХ УСЛОВНО – ПАТОГЕННЫМИ БАКТЕРИЯМИ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ

Ворошилова Н.Н. доктор медицинских наук, профессор

Боговазова Г.Г. кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник

Казакова Т.Б. кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник

Алфорова Э.В. кандидат биологических наук

Филиал ФГУП «НПО Микроген» МЗ РФ «Иммунопрепарат» г. Уфа

Тел. (347) 229-92-54, reza08@mail.ru

Ключевые слова: бактерии, бактериофаги, способы приготовления препаратов бактериофагов, гнойно – воспалительные заболевания, лечение.

Разработаны эффективные технологии приготовления новых препаратов бактериофагов, в том числе: полибактериофага поливалентного очищенного, бактериофага клебсиелл поливалентного очищенного, бактериофага клебсиелл пневмонии очищенного, бактериофага энтеробактер поливалентного очищенного. Препараты бактериофагов не вызывают токсических и аллергических реакций, обладают широким спектром антибактериальной активности и высокой степенью клинической эффективности, что дает возможность расценивать их как эффективные и альтернативные антибиотикам средства антибактериальной терапии. Препараты бактериофагов эффективны при лечении гнойно - воспалительных заболеваний мочеполовой сферы (цистит, кольпит, пиелонефрит, гломерулонефрит, сальпингоофорит, простатит), хирургических инфекций (абсцесс, флегмона, перитонит, плеврит, мастит, нагноения ран, ожогов), воспалительных заболеваний глаз (конъюнктивит, кератит, язва роговицы иридоциклит), стоматитов, заболеваний уха, горла и носа (гайморит, фронтит, отит, ангина, ларингит, трахеит, бронхит, пневмония), а также инфекционных заболеваний новорожденных (перитонит, менингит, пневмония, отит, омфалит, везикулопуптулез, остеомиелит, сепсис).

Антибиотикотерапия гнойно – воспалительных и энтеральных заболеваний, вызванных условно - патогенными бактериями *Klebsiella*, *Escherichiae*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterobacter* чрезвычайно затруднена естественной резистентностью возбудителей к антибиотикам, а также неуклонным ростом антибиотикорезистентных форм бактерий и ростом числа побочных токсических, аллергических и дисбиотических осложнений от применения антибиотиков. В числе этих заболеваний - хирургические инфекции, заболевания уха, горла, носа, легких и плевры, озена, склерома, урогенитальная патология, гастроэнтероколиты, дисбактериоз кишечника, инфекционные заболевания детей первого года жизни. В связи с изложенным, разработка новых препаратов бактериофагов, как альтернативы антибиотикам, является весьма актуальной задачей.

Нами разработаны новые препараты бактериофагов, технологии их приготовления и способы применения, которые защищены патентами Российской Федерации и не имеют мировых аналогов, в том числе это - полибактериофаг поливалентный очищенный, бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный, бактериофаг клебсиелл пневмонии очищенный, бактериофаг энтеробактер поливалентный очищенный [1-8].

В таблице 1 приведены характеристики спектра антибактериальной активности новых препаратов.

Таблица 1 - Спектр антибактериальной активности препаратов бактериофагов

Препараты	Спектр антибактериальной активности
бактериофагов	препаратов бактериофагов
Пиобактериофаг поливалентный очищенный	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Escherichia coli</i> (serotypes O1, O12, O25, O10, O23, O13, O55, O18, O13, O133, O124, O6, O26, O3, O9, O11, O12, O114, O44, O127, O111, O125, O142, O112, O20, O33, O151)
Бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный	<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Klebsiella ozaenae</i>
Бактериофаг клебсиелл пневмонии очищенный	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Бактериофаг энтеробактер поливалентный очищенный	<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Enterobacter agglomerans</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i>

Технологии приготовления вышеперечисленных препаратов бактериофагов предусматривают постоянное обновление состава бактериофагов в препаратах под контролем спектра их антибактериальной активности, а также оптимизированные способы периодического динамического гомогенного глубинного культивирования бактерий и бактериофагов, способы очистки фаголизатов бактерий от бактериальных клеток, бактериальных токсинов и метаболитов с использованием методом мембранного разделения. Степень очистки составляет 98-99%, что позволяет исключить токсические и аллергические реакции на применение препаратов. Способы применения препаратов бактериофагов следующие - прием внутрь, орошение ран, введение в дренированные полости - брюшную, плевральную, полости пазух носа, среднего уха, абсцессов, ран, матки, мочевого пузыря.

Нами установлено, что препараты бактериофагов по широте спектра антибактериальной активности не уступают и даже превосходят большинство из изученных нами антибиотиков (33 вида). Пиобактериофаг поливалентный очищенный был активен в отношении 89,0% *E.coli*; 85,0% - *Staphylococcus*; 88,0 % - *Streptococcus*; 72,0% - *Proteus*; 81% - *Ps.aeruginosa*; 89% - *K. pneumoniae*. Активность большинства антибиотиков была значительно ниже (таблица 2).

Бактериофаг клебсиелл пневмонии очищенный и бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный превосходили по антибактериальной активности в отношении бактерий *Klebsiella rhinoscleromatis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenae* все изученные нами антибиотики.

Аналогичные данные были получены при изучении активности бактериофага энтеробактер поливалентного очищенного в отношении бактерий *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter aerogenes* (активность 83,2-88,1%). Установлено, что препараты бактериофагов в отличие от антибиотиков безвредны, не реактогенны, не агрессивны в отношении пробиотиков –лактобактерина, бифидумбактерина и бактисубтила.

Нами установлено, что препараты бактериофагов эффективны при лечении заболеваний, вызванных антибиотикорезистентными штаммами бактерий, в частности - паратонзиллярных абсцессов, воспалений пазух носа, а также гнойно - септических заболеваний больных реанимации, хирургических инфекций, плевритов, бронхитов, пиелонефритов, холециститов, гастроэнтероколитов, циститов, парапроктитов, гастроэнтероколитов, дисбактериоза кишеч-

ника, воспалительных заболеваний и сепсиса новорожденных. Применение полибактериофага поливалентного очищенного и бактериофага энтеробактер поливалентного очищенного при лечении хронического цистита, пиелонефрита, простатита, уретрита, нагноений ран позволило в 84% случаев получить положительный бактериологический эффект и в 92% случаев - положительный клинический эффект, который был сопоставим с активностью только фторхинолонов и превосходил по эффективности другие используемые в урологии антибактериальные препараты. При этом установлено, что причиной указанных заболеваний являются бактерии родов *Klebsiella*, *Escherichiae*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterobacter*, из которых 80% составляли представители семейства *Enterobacteriaceae*.

Доля полирезистентных к антибиотикам бактерий (резистентность более чем к 50% препаратов) составляла 29-95%. Чувствительность выделенных бактерий к полибактериофагу и бактериофагу энтеробактер поливалентному, соответственно составляла 72-94%, препараты были активны и в отношении антибиотикорезистентных штаммов бактерий. Кроме того, нами установлено, что в 64,75% случаев у таких больных выявлен дисбактериоз кишечника и контаминация его условно - патогенной микрофлорой, в том числе - *Escherichia coli* (23,7%), *Pseudomonas aer.* (16,7%), *Proteus* (12,4%), *Klebsiella* (6,1%), *Enterobacter* (12,6%), *Staphylococcus* (5,1%), *Streptococcus* (13,1%). **Дополнительное пероральное введение препаратов бактериофагов, помимо их местного применения (в полости мочевого пузыря, почечной лоханки при наличии дренажей) в очаге воспаления, позволило воздействовать как на экзогенный, так и эндогенный факторы инфицирования и получить положительный бактериологический (элиминация возбудителя из очага воспаления) и положительный клинический эффект соответственно у 88,4±0,9% и 92,2±0,7% больных. В контрольной группе больных, получавших традиционную антибактериальную терапию, эти данные составляли соответственно 39,1±9,2% и 58,5±5,5%. При сравнении с контрольной группой больных установлено, что применение препаратов бактериофагов приводило к стимуляции иммунитета, о чем свидетельствовали показатели фагоцитоза, метаболическая активность нейтрофилов, абсолютное количество лимфоцитов, относительное количество Т - лимфоцитов, нормализация уровня нейтрофилов, увеличение в сравнении с контролем доли фагоцитирующих нейтрофилов.**

Таблица 2. Спектр антибактериальной активности антибиотиков и препаратов бактериофагов в отношении клинических штаммов бактерий

Антибактериальные препараты	E. coli 102шт.	P r o - teus 230шт.	Staph. 108шт.	Strept 80шт.	Ps.aeru- ginosa 100шт.	K.pneumoniae 150шт.	K.оzaeаe 120шт.	K.rhino- sclero- matis 150шт.	Entero- bacter aglomerans 104 шт.	Entero- bacter аerogenes. 180 шт.	Entero- bacter cloace 209 шт.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Пенициллин	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Левомецетин	10,0	4,5	0	7,5	1,0	18,5	56,5	41,9	41,9	18,5	0
Карбенициллин	5,9	3,5	36,15,9	18,8	3,0	0	0	1,6	1,6	0	56,5
Цефалоспидин	2,3	0	29,6	3,8	3,0	0	0	0	0	0	0
Тетрациклин	39,2	1,3	55,6	17,5	4,0	8,3	30,7	19	19,4	8,3	37,0
Стрептомицин	9,8	2,2	2,8	3,8	3,0	5,6	29,0	27,4	27,4	5,6	29,0
Фузидин	0	0	96,6	0	0	0	0	0	0	0	0
Линкомицин	23,3	0	90	0	0	0	0	0	0	0	0
Бензилпенициллин	40,0	13,3	50,4	0	0	0	2	0	0	0	0
Нитроксалин	96,6	96,6	96,6	0	0	0	0	4	1,6	0	0
Олеандомицин	13,3	3,0	73,3	0	0	1,6	0	0	1,6	0	0
Эритромицин	60,0	0	70,0	1,9	3,2	4,8	11,4	17,2	4,8	1,9	3,2
Рифампицин	30,0	33,3	96,6	0	0	1,6	25,7	17,2	1,6	0	0
Ванкомицин	0	6,6	96,6	0	0	0	0	0	0	0	0
Цефазолин	90,0	83,3	86,6	0	0	0	0	0	0	0	0
Ампициллин	73,3	46,6	30,0	0	0	0	0	0	0	0	0
Цефалексин	70,0	70,0	83,3	0	0	0	0	0	0	0	0
Гентамицин	93,3	96,6	86,6	0	41,8	91,7	84,3	87,7	67,7	21,3	25,8
Оксациллин	33,0	6,6	86,6	0	0	0	0	0	1	8,6	4,6
Доксациллин	0	0	0	0	0	0	0	0	3,2	1,9	2,6

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Колистин	42,8	13,3	6,6	0	0	12,1	0	9,1	0	3,2	0
Цефотоксим	96,6	93,1	86,6	0	14,8	8,6	0	0	0	7,2	3,2
Хлорамфеникол	86,6	73,3	93,3	0	0	14,1	0	7,3	6,8	0	17,6
Тримоксазол	48,2	46,6	13,3	0	0	0	15,3	0	7,4	0	0
Сульфизоксазол	0	6,6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ципрофлоксацин	96,0	100	80,0	0	7,7	17,0	12,4	10,3	0	5,3	0
Ристомицин	51,0	12,0	68,0	0	0	0	0	0	7,3	0	0
Тобрамицин	96,6	100	89,6	0	0	0	0	0	0	9,7	0
А з л о ц и л л и н	79,3	60,0	63,3	0	27,3	0	11,7	0	0	0	0
Амикацин	96,6	100	86,6	0	14,3	12,2	0	0	13,3	0	0
Клиндамицин	10,0	13,3	86,6	0	0	0	0	0	0	0	0
Пиобактериофаг поливалентный очищенный	89,0	72,0	85,0	88,0	81,0	89,0	-	-	-	-	-
Бактериофаг клебсиелл пневмонии очищенный	-	-	-	-	-	88,0	-	-	-	-	-
Бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный	-	-	-	-	-	88,0	93,0	88,0	-	-	-
Бактериофаг Энтеробактер поливалентный очищенный	-	-	-	-	-	-	-	-	85,1	83,2	88,1

При изучении эффективности препарата в офтальмологии показано, что пиобактериофаг поливалентный очищенный является высокоэффективным препаратом при лечении гнойных посттравматических поражений глаз – конъюнктивитов, кератитов, язв роговицы, иридоциклитов.

При лечении стоматологической патологии установлено, что причиной возникновения пародонтита являются бактерии *Staphylococcus* (26%), *Streptococcus* (63%), а также - *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*. Препарат пиобактериофага обладает широким спектром антибактериальной активности в отношении клинических штаммов бактерий - 78-98% (из 1036 штаммов), в том числе - в отношении штаммов, резистентных к антибиотикам и эффективен при лечении пародонтита у больных с общесоматической патологией (инфекционные поражения желудочно - кишечного тракта, дыхательных путей).

Использование пиобактериофага поливалентного очищенного в терапии паратонзиллитов предупреждает возможность тонзиллогенных осложнений и рецидивов, способствует активации Т - клеточного и фагоцитарного звеньев иммунитета на общем и региональном уровне.

При лечении 136 больных хроническим гнойным риносинуситом нами установлено, что этиологически значимыми в возникновении этого заболевания являются бактерии *Staphylococcus*, *Ps. aeruginosa*, *E.col*, *K. pneumoniae*, *Ent. aerogenes*, *Ent. cloace*. Также установлено, что пиобактериофаг поливалентный очищенный обладает широким спектром антибактериальной активности (88,2% - 100%) в отношении патогенных бактерий *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *E. coli*, *Kl.pneumoniae* и *Ps. aeruginosa*, позволяет эффективно элиминировать патогенные бактерии из очага воспаления, в отличие от антибиотиков, стимулирует местный клеточный иммунитет, что в совокупности определяет высокую (100%) клиническую эффективность данного препарата и позволяет удлинить в сравнении с антибиотикотерапией в 2,4 раза сроки ремиссии заболевания и предотвратить вторичное инфицирование слизистых оболочек патогенными грибами. При изучении эффективности препарата бактериофага клебсиелл пневмонии установлено, что препарат эффективен в 92-100% случаев клебсиеллезных инфекционных заболеваний - при лечении гнойно - воспалительных заболеваний мочеполовой сферы (цистит, кольпит, пиелонефрит, гломерулонефрит, сальпингоофорит, простатит), хирургических инфекций (абсцесс, флегмона, перитонит, плеврит, мастит, нагноения ран, ожогов), а также инфекционных заболеваний новорожденных (перитонит, менингит, пневмония, отит, омфалит, везикулопустулез, остеомиелит, сепсис).

При изучение терапевтической активности препарата бактериофага клебсиелл поливалентного установлено, что применение препарата было эффективным в 92% случаев при лечении атрофических форм озоны и позволило получить выраженный клинический эффект в виде снижения явлений атрофии, нормализации состояния слизистых оболочек верхних дыхательных путей и носового дыхания. Применение препарата для лечения острых форм склеромы было эффективным в 80% случаев. У 63% больных отмечено улучшение клинического состояния уже на 10-15 день лечения. Препарат был эффективным в 100% случаев при лечении гайморитов, отитов, абсцессов носовой перегородки, фронтита, эпитимпанита, пиелонефрита, орхоэпидидимита, цистита и паранефральной флегмоны.

Изучение клинической эффективности бактериофага энтеробактер поливалентного очищенного (проведено на 216 больных) показало, что препарат был эффективен при лечении хронических гастроэнтероколитов и дисбактериоза кишечника - клиническая эффективность в 91,4% случаев, в контрольной группе эффективность составляла 55,3%. Препарат был эффективен при лечении урологических инфекций - клиническая эффективность 86,6±13,5%, хирургических инфекций - нагноений ожогов, гнойных ран, остеомиелита, медиастинита, абсцессов

и флегмон - эффективность $86,3 \pm 12,1\%$, а также при лечении инфекционных заболеваний новорожденных и детей первого года жизни - пневмонии, диареи, омфалита, цистита, нефроза. Бактериологическая эффективность при фаготерапии новорожденных составляла $68,6 \pm 11,3\%$, клиническая эффективность - $90,9 \pm 4,6\%$. В контроле эти показатели составляли соответственно $36,6 \pm 11,3\%$ и $65,4 \pm 4,2\%$.

Выводы: 1. Разработаны эффективные технологии приготовления и способы применения новых препаратов бактериофагов, в том числе: полибактериофага поливалентного очищенного, бактериофага клебсиелл поливалентного очищенного, бактериофага клебсиелл пневмонии очищенного, бактериофага энтеробактер поливалентного очищенного.

2. Разработанные препараты бактериофагов не вызывают токсических и аллергических реакций, не влияют на препараты пробиотиков, обладают широким спектром антибактериальной активности и высокой степенью клинической эффективности.

3. Препараты бактериофагов эффективны при лечении гнойно - воспалительных заболеваний мочеполовой сферы (цистит, кольпит, пиелонефрит, гломерулонефрит, сальпингоофорит, простатит), хирургических инфекций (абсцесс, флегмона, перитонит, плеврит, мастит, нагноения ран, ожогов), воспалительных заболеваний глаз (конъюнктивит, кератит, язва роговицы иридоциклит), стоматитов, пародонтитов, заболеваний уха, горла, и носа (гайморит, фронтит, отит, ангина, ларингит, трахеит, бронхит, пневмония), а также инфекционных заболеваний новорожденных (перитонит, менингит, пневмония, отит, омфалит, везикулопустулез, остеомиелит, сепсис).

Библиографический список

1. Ворошилова Н.Н., Баснакьян И.А., Казакова Т.Б., Михайлов А.И., Каримов Р.М. Способ культивирования бактериофагов энтеробактерий. Патент РФ № 1058283. 1983.
2. Ворошилова Н.Н., Горбаткова Г.А., Казакова Т.Б., Байгузина Ф.А., Боговазова Г.Г., Перепечкин Л.П., Борщов А.П., Афанасьева О.Н., Федотова Е.Е. Способ выделения бактериофагов. 1988. Патент РФ № 412302. 1988.
3. Ворошилова Н.Н., Казакова Т.Б., Горбаткова Г.А., Боговазова Г.Г., Афанасьева Э.В., Бондаренко В.М. Способ получения полибактериофага. Патент РФ №2036232. 1992.
4. Н.Н.Ворошилова, Г.Г.Боговазова, В.М.Бондаренко, Т.Б.Казакова, Г.А. Горбаткова. Препарат бактериофага клебсиелл пневмонии. Патент РФ №1697422. 1990.
5. Н.Ворошилова, Г.Г.Боговазова, В.М.Бондаренко, Т.Б.Казакова, Г.А.Горбаткова. Препарат бактериофага клебсиелл поливалентный. Патент РФ №1697421. 1990.
6. Фаттахов Б.Т., Сережин И.Н., Ворошилова Н.Н., Даутова З.А. Средство для лечения травматических инфекций глазных болезней. Заявка на патент 96119718\ 14 (26159), положительное решение от 28.06.99. № 145703.
7. Ворошилова Н.Н., Казакова Т.Б., Боговазова Г.Г., Алферова Э.В., Усманова С.С., Горбаткова Г.А. Способ получения полибактериофага поливалентного Патент РФ № 2153534. 1999.
8. Арефьева Н.А., Ворошилова Н.Н., Азнабаева Л.Ф., Султанов Н.М. Способ лечения хронических гнойных риносинуситов. Патент РФ №2345784. 2009.

DEVELOPMENT OF NEW PREPARATIONS OF BACTERIOPHAGES FOR TREATMENT IT IS PURULENT – THE INFLAMMATORY AND ENTERALNY DISEASES CAUSED CONDITIONALLY – PATHOGENIC BACTERIA AND STUDYING OF THEIR CLINICAL EFFICIENCY

Key words: *bacteria, bacteriophages, ways of preparation of preparations of bacteriophages, it is purulent – inflammatory diseases, treatment*

Effective technologies of preparation of bacteriophages new preparations are developed, including: pyobacteriophage polyvalent cleared, bacteriophage klebsiellae polyvalent cleared, bacteriophage klebsiellae pneumoniae cleared, bacteriophage an enterobakter polyvalent cleared. Preparations of bacteriophages don't cause toxic and allergic reactions, possess a wide range of antibacterial activity and high degree of clinical efficiency that gives the chance to regard them as means of antibacterial therapy effective and alternative to antibiotics. Preparations of bacteriophages are effective at treatment is purulent - inflammatory diseases of the urinogenital sphere (cystitis, a colpitis, pyelonephritis, glomerulonephritis, salpingooforitis, prostatitis), surgical infections (abscess, phlegmon, peritonitis, pleurisy, mastitis, suppurations of wounds, burns), inflammatory diseases of eyes (conjunctivitis, keratitis, a cornea ulcer, iridociklitis), stomatitises, diseases of an ear, a throat, and a nose (antritis, plays the dandy, otitis, quinsy, laryngitis, tracheitis, bronchitis, pneumonia), and also infectious diseases of newborns (peritonitis, meningitis, pneumonia, otitis, omphalitis, vesiculopustulesis, osteomyelitis, sepsis).

УДК 579.843:578.1

БАКТЕРИОФАГИ ПАРАГЕМОЛИТИЧЕСКИХ ВИБРИОНОВ: БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ПРИМЕНЕНИЕ

Гаевская Н.Е., gaevskaya.nata@mail.ru

Кудрякова Т.А., доктор медицинских наук,

Македонова Л.Д., кандидат медицинских наук,

Качкина Г.В.,

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт»

Роспотребнадзор, тел. 8(863) 240-91-08

Ключевые слова: *Vibrio parahaemolyticus, бактериофаги, биологические свойства, фаготипирование.*

Для первичной характеристики и дифференциации свежесвыделенных фагов параземолитических вибрионов предложены 2 индикаторных штамма. Проведено сравнительное изучение биологических свойств 20 бактериофагов параземолитических вибрионов, выделенных в разных регионах нашей страны. Осуществлено фаготипирование штаммов параземолитических вибрионов по новой схеме, которая включает в себя 11 фаготипов.

Введение. При обследовании больных острыми желудочно-кишечными заболеваниями (ОЖКЗ), особенно в приморских районах, а также морской воды и её обитателей выделяются галофильные вибрионы, играющие определенную роль в патологии человека [1, 2]. Впервые параземолитические вибрионы были выделены в Японии в 1950 г., где они были признаны причиной 70% пищевых отравлений [3]. У нас в стране параземолитические вибрионы обнаружены в морях, соленых озёрах и продуктах моря.

Бактериологическая диагностика гастроэнтеритов, вызываемых параземолитически-