

ГБОУ ВПО «ТИХООКЕАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ МЗСР РФ»

Кафедра микробиологии и вирусологии

# БАКТЕРИОФАГИЯ

д.м.н., проф. Шаркова В.

А.

# Фаги

- Бактериофаги - это вирусы, паразитирующие на бактериальных клетках
- Бактериофагия – процесс взаимодействия фагов с бактериями, заканчивающийся очень часто их разрушением

(bacteriophage – пожирающий бактерию)



# ИСТОРИЧЕСКАЯ СПРАВКА

- ▣ *1898 г.* – Н. Ф. Гамалея наблюдал спонтанный лизис бактерий (фильтрат сибиреязвенных бацилл вызывает лизис свежих культур этих МКО)
- ▣ *1915 г.* – Ф. Туорт описал феномен «стекловидного» перерождения стафилококков (белые непрозрачные колонии стафилококка становились прозрачными и исчезали, а агент, их лизирующий, проходит через бактериальные фильтры, сохраняя способность растворять свежие культуры этих микробов)

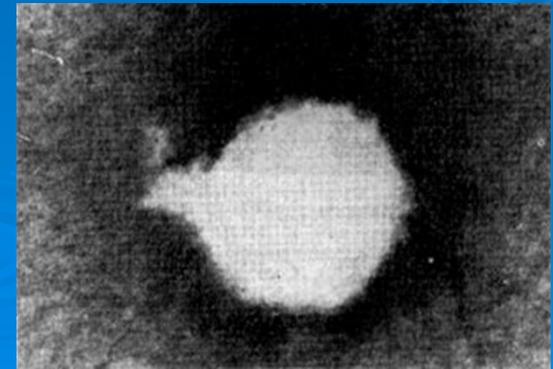
□ *1917 г.* – Д`Эррель подробно изучил взаимодействие фага и бактерий и дал литическому агенту название «бактериофаг»:

вносил фильтрат испражнений больного дизентерией в пробирки со свежесосеянной культурой возбудителя этой болезни. Культура дизентерийных бактерий разрушалась (лизировалась), что послужило основанием считать данный агент живым корпускулярным

**Bacteriophagum intestinal – выделенный из кишечника пожиратель бактерий**

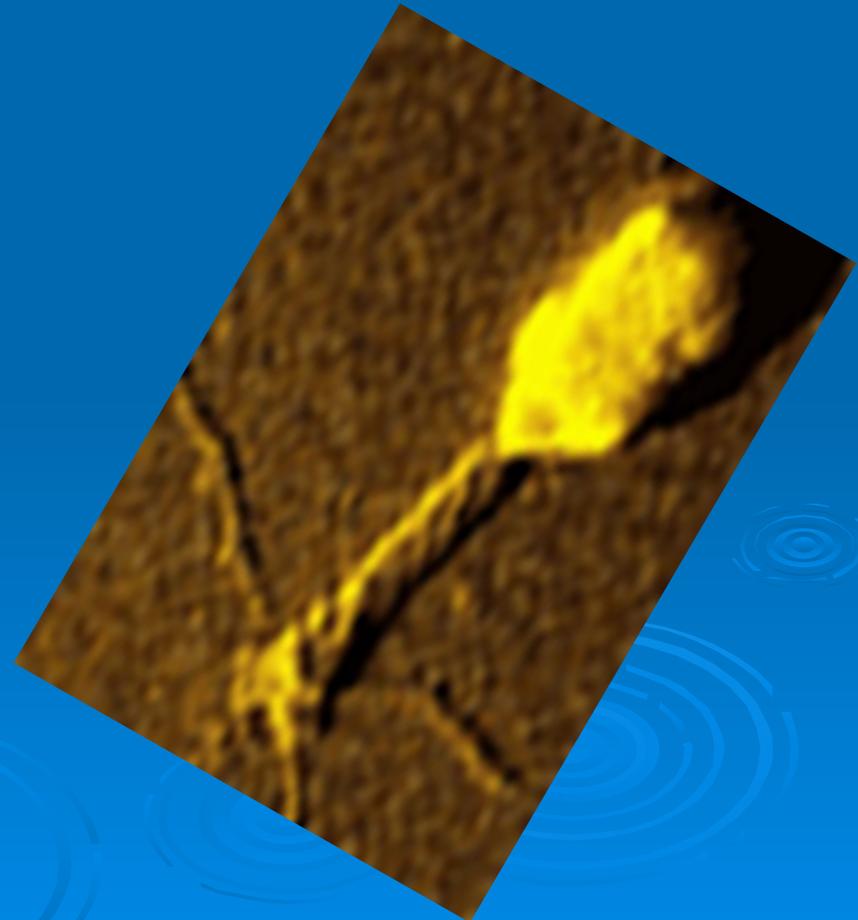


- Бактериофаги распространены повсеместно
- Они встречаются всюду, где есть бактерии – в почве, воде, кишечном тракте, гнойных выделениях и т.д.
- Из сточных вод можно выделить практически любой фаг

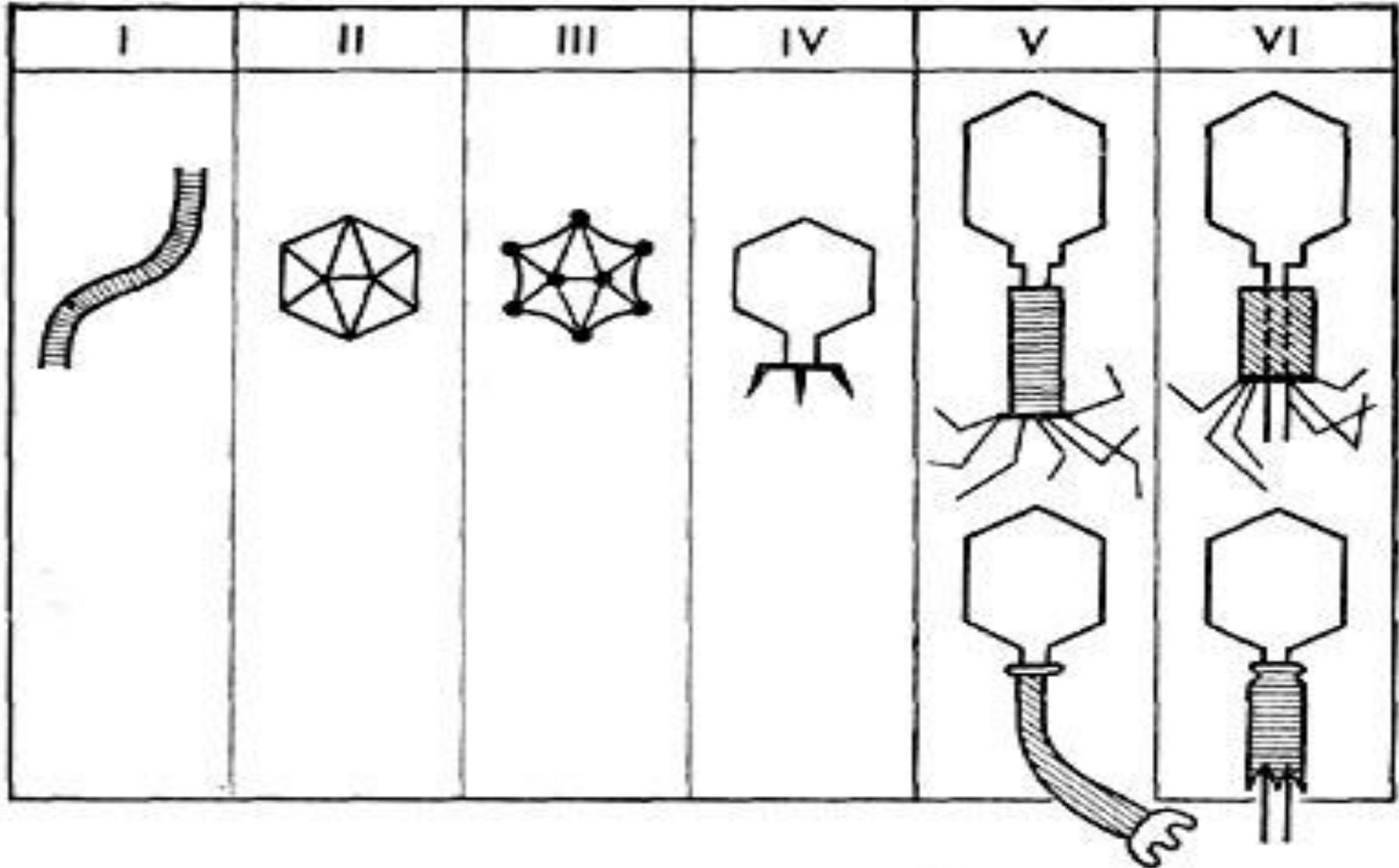


# Классификация фагов

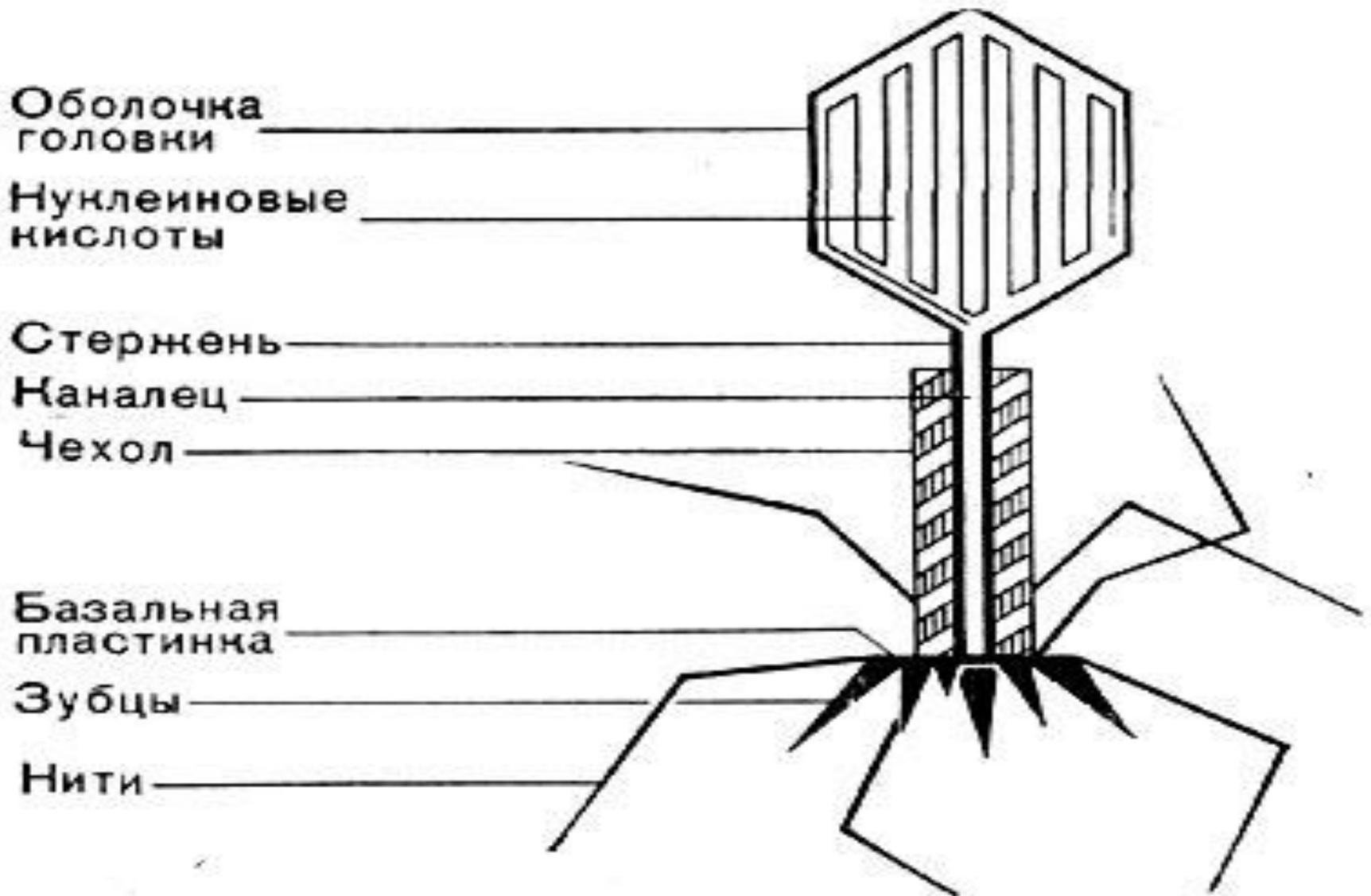
- по типу нуклеиновой кислоты
- по типу симметрии
  - спиральная
  - кубическая
  - бинарная
- по форме
- по размерам
  - мелкие
  - средние
  - крупные



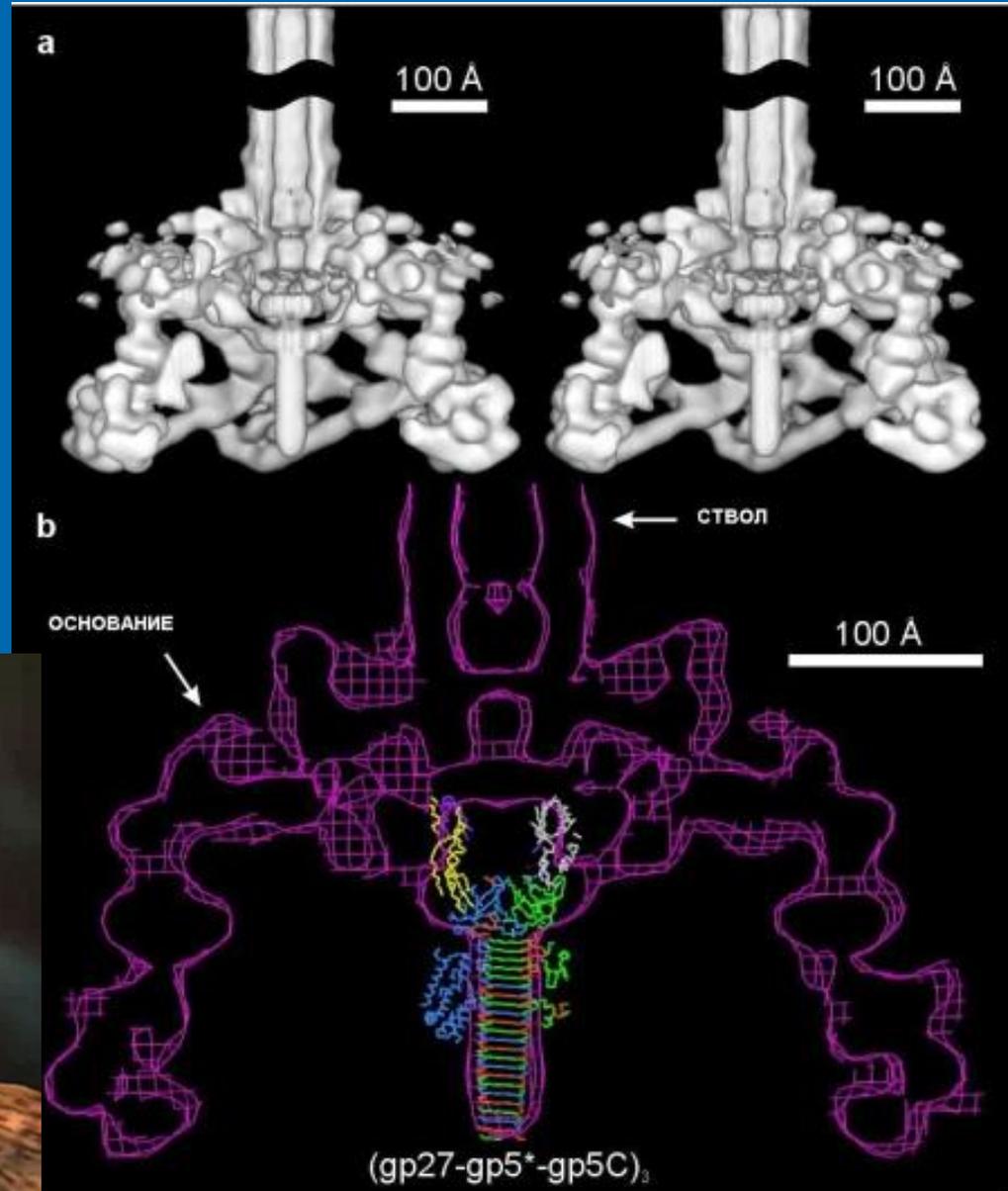
# Классификация бактериофагов



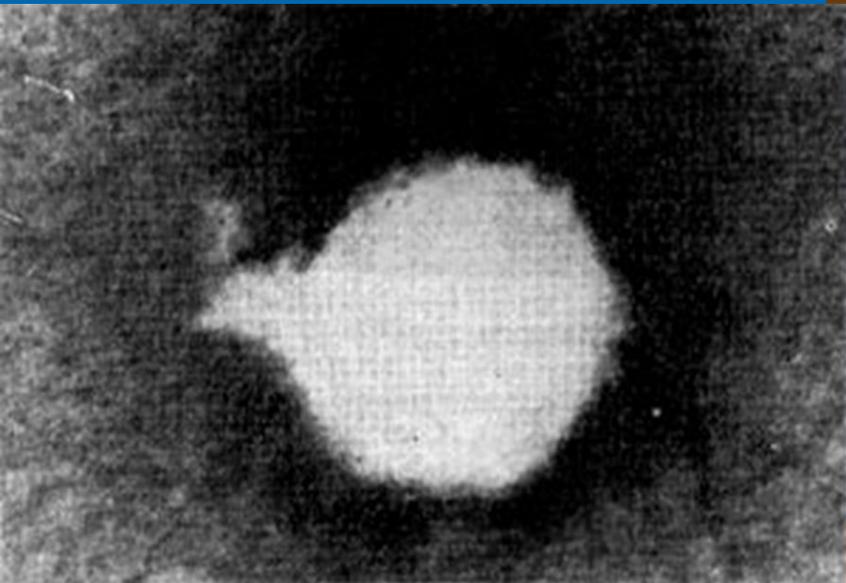
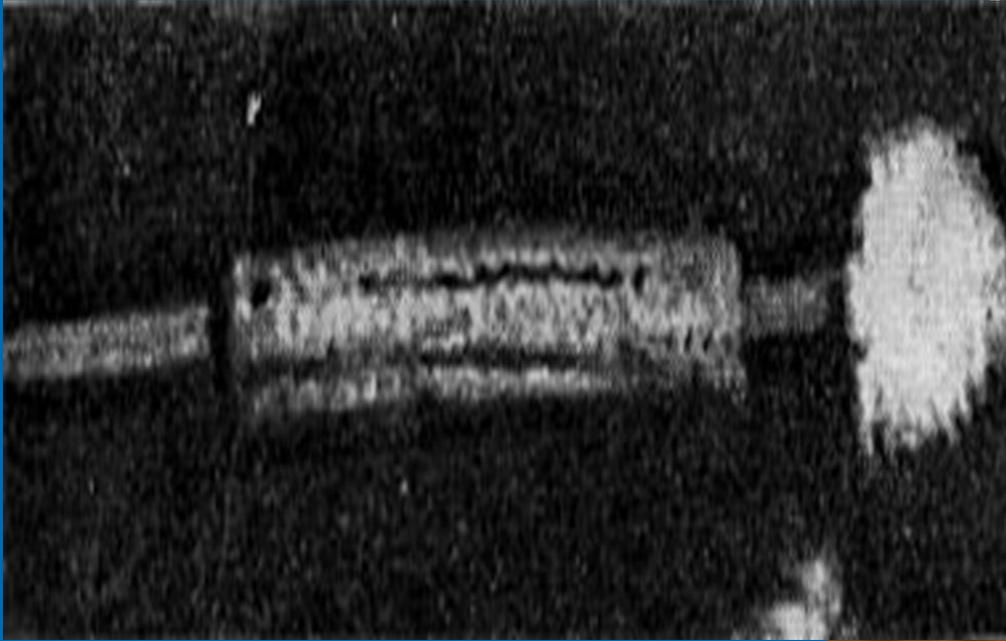
# Структура T2 бактериофага



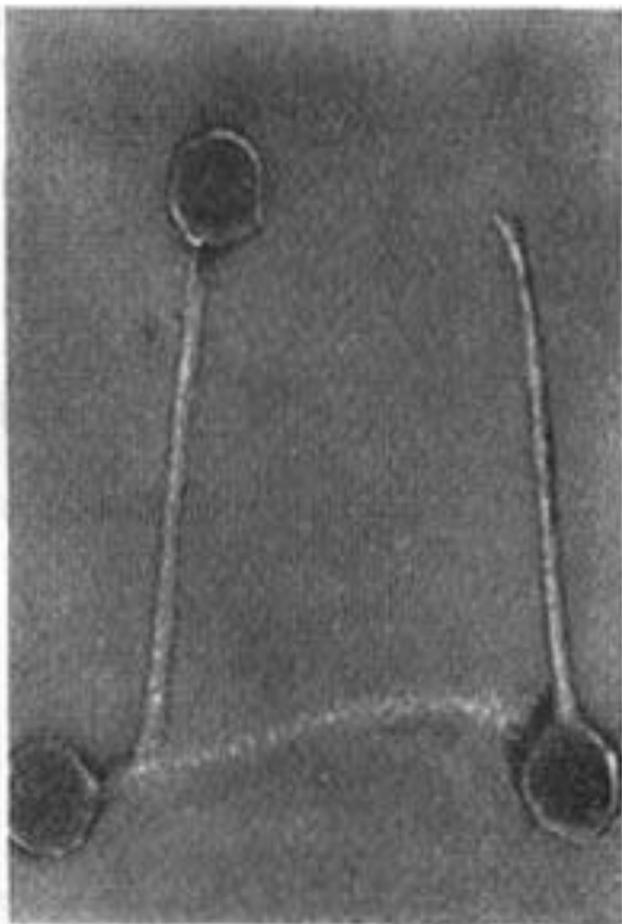
# СТРОЕНИЕ ОСНОВАНИЯ БАКТЕРИОФАГА T4



# Бактериофаг



# Бактериофаги



# *СПЕЦИФИЧНОСТЬ*

- Фаги обладают строгой специфичностью
  - **видовая специфичность** – фаги паразитируют только в определенном виде микробов
  - **типовая специфичность** - на определенных представителях данного вида
- поливалентные фаги – лизируют микроорганизмы близких видов

• инфекционные фаги – способны вызвать разные формы фаговой инфекции

• неинфекционные (вегетативные)- незрелые фаги, находящиеся в стадии размножения

# инфекционные фаги

- покоящиеся — находятся вне клетки
- вирулентные — вызывают продуктивную форму инфекции
- умеренные — способны вызывать продуктивную и редуктивную фаговую инфекцию

# форма жизненного цикла фага

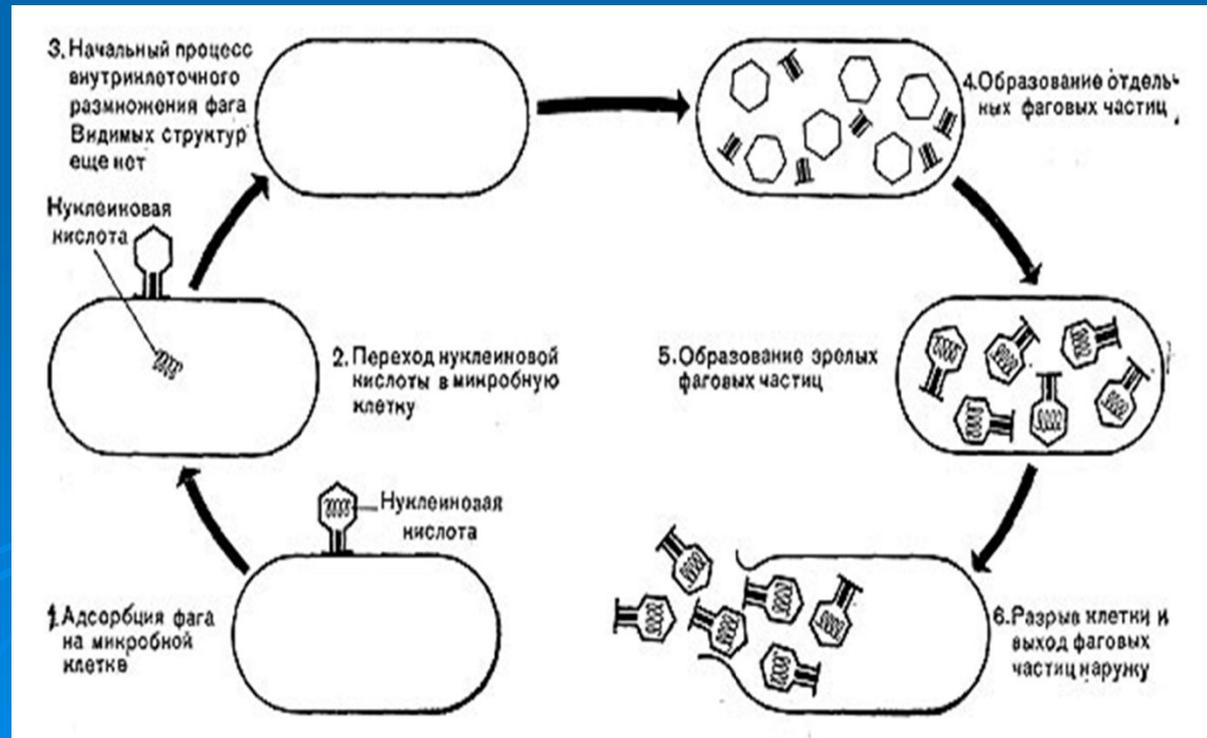
- продуктивная инфекция
- редуктивная инфекция
- abortивная инфекция



# Механизм действия бактериофагов

- Адсорбция бактериофагов на бактериальных клетках
- Инъекция ДНК бактериофага внутрь бактерии
- Репликация копий ДНК бактериофага, синтез капсида и отростков фаговых вирионов
- Сборка вирионов
- Лизис бактериальной клетки
- Вышедшие в культуральную среду в результате

лизиса бактериальных клеток бактериофаги повторно инфицируют и затем лизируют другие МКО



Биологи во главе с Майклом Россманом получили детальное изображение процесса инфекции бактерии *E. Coli* бактериофагом T4. По ним исследователи восстановили процесс прокалывания клеточной мембраны вирусом. В течение этого процесса бактериофаг изменяет форму своего основания (формой похожего на цветок) для того, чтобы эффективно присоединиться к клеточной мембране и проколоть ее специальным "стержнем", который выдвигается по мере того, как основание изменяет свою форму. Для того, чтобы добиться такой трансформации основания, ряд белков, его составляющих, изменяют свою форму. С помощью криоэлектронной микроскопии команда исследователей получила ряд изображений основания, по которым была восстановлена динамика процесса.



По результатам исследователей был составлен видеофильм, который объясняет, как работает механизм "впрыска" бактериофага T4. Исследователи надеются, что знание механизма работы инъектора бактериофага поможет в будущих методах доставки лекарств.

## Прикрепление фага

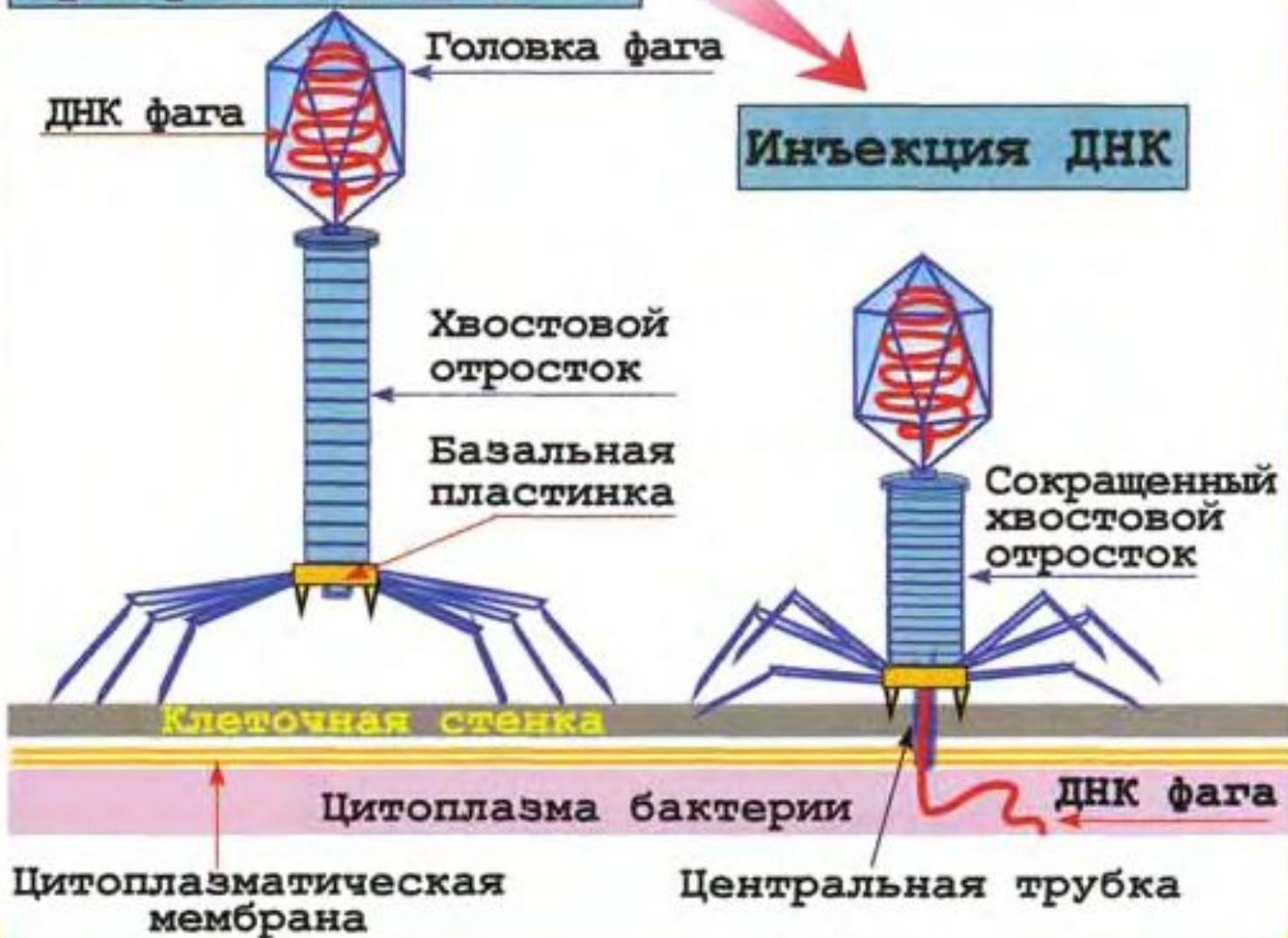
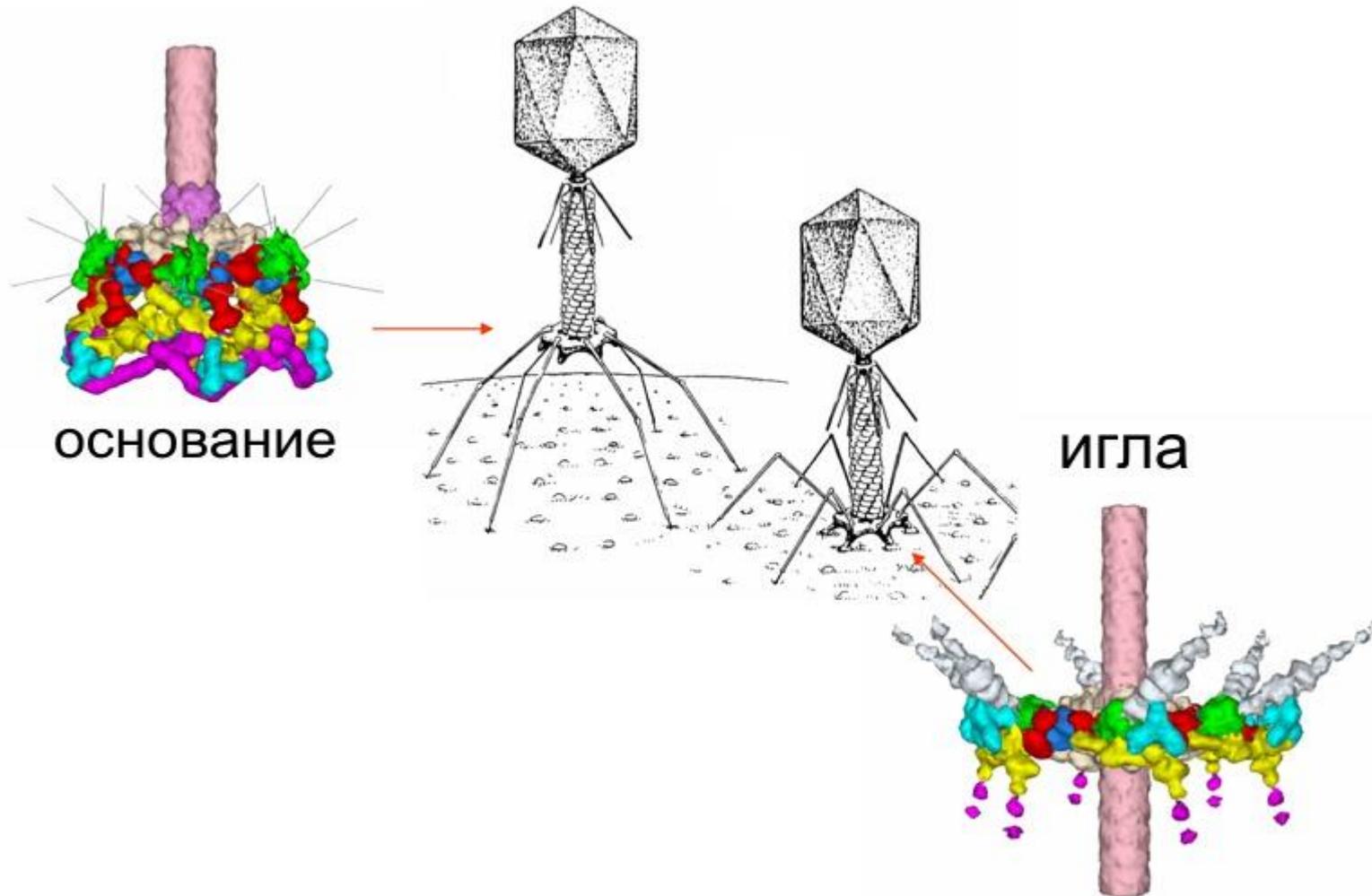
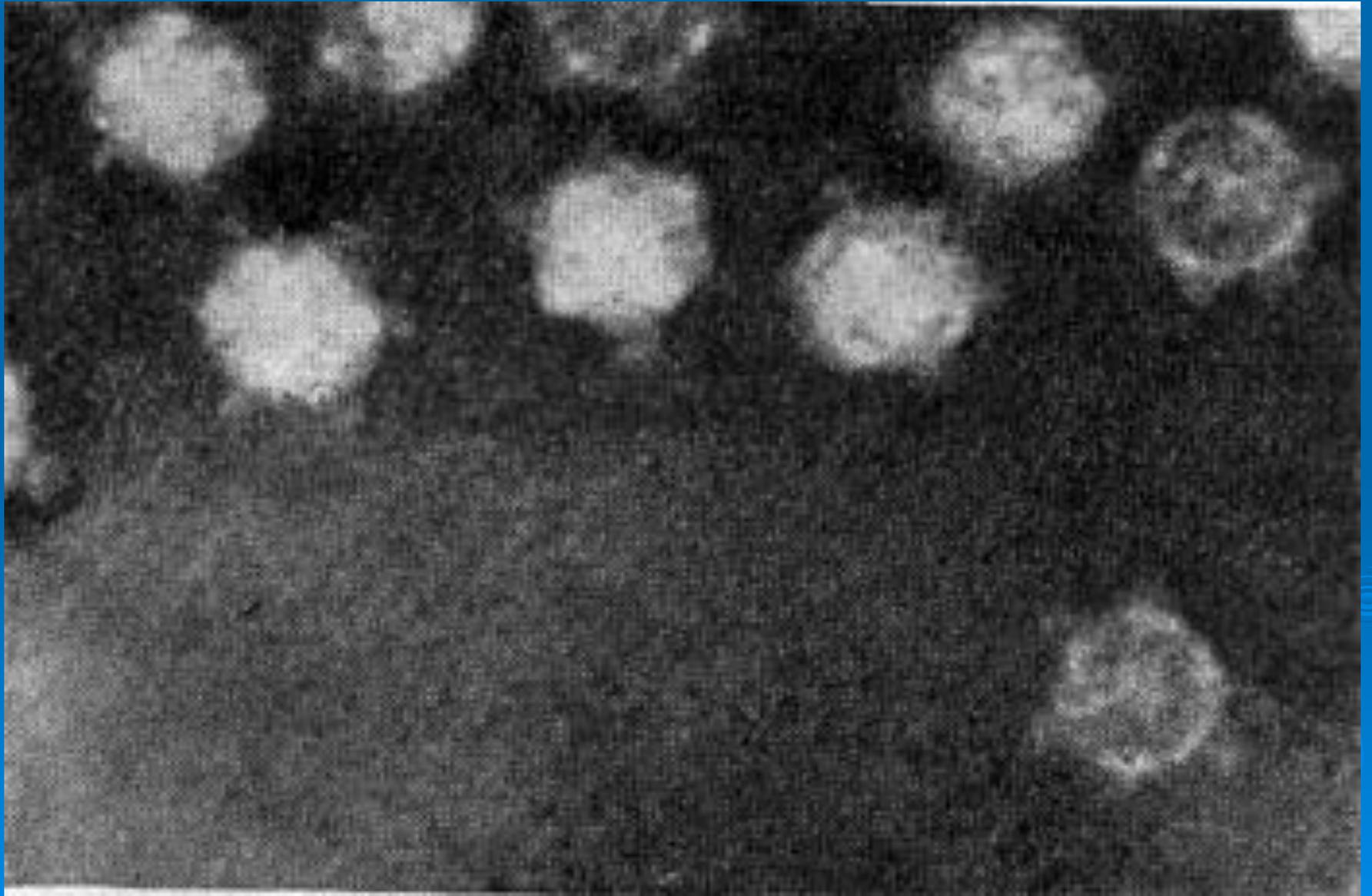


Рис. 4.17. Взаимодействие бактериофага с оболочкой бактерии

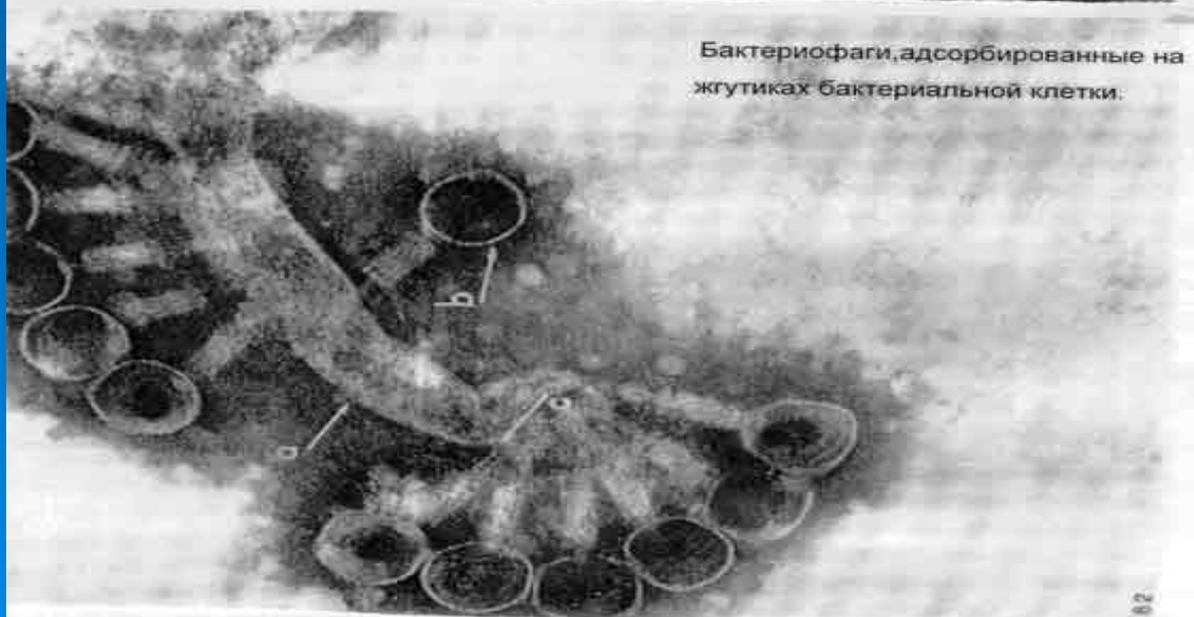
# МОДЕЛЬ РАБОТЫ БЕЛКОВОЙ МАШИНЫ ВПРЫСКА ФАГА Т4



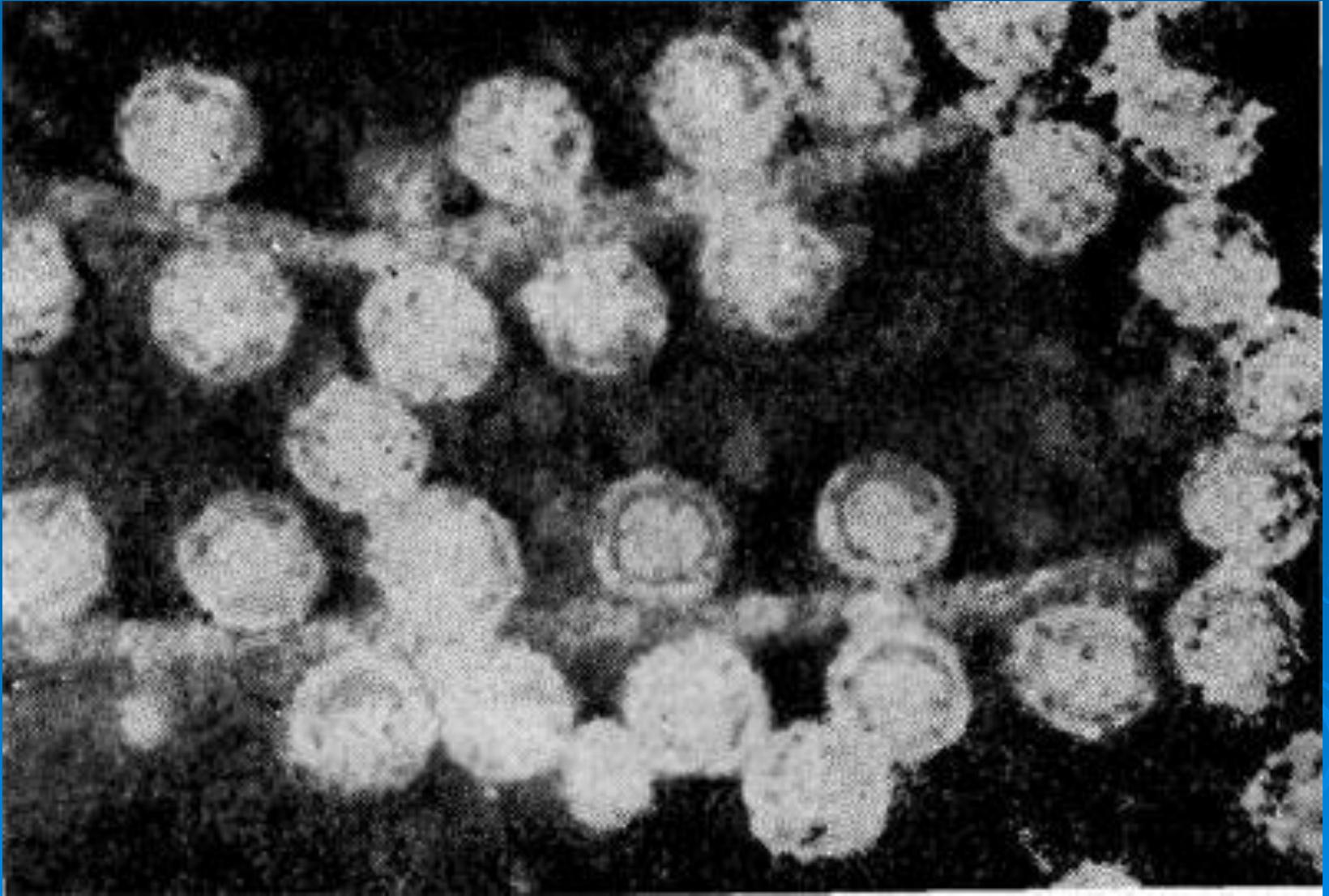
# *Бактериофаги*



# Бактериальная клетка с адсорбированными на ней бактериофагами



# *Бактериофаги, сорбированные на клетке*



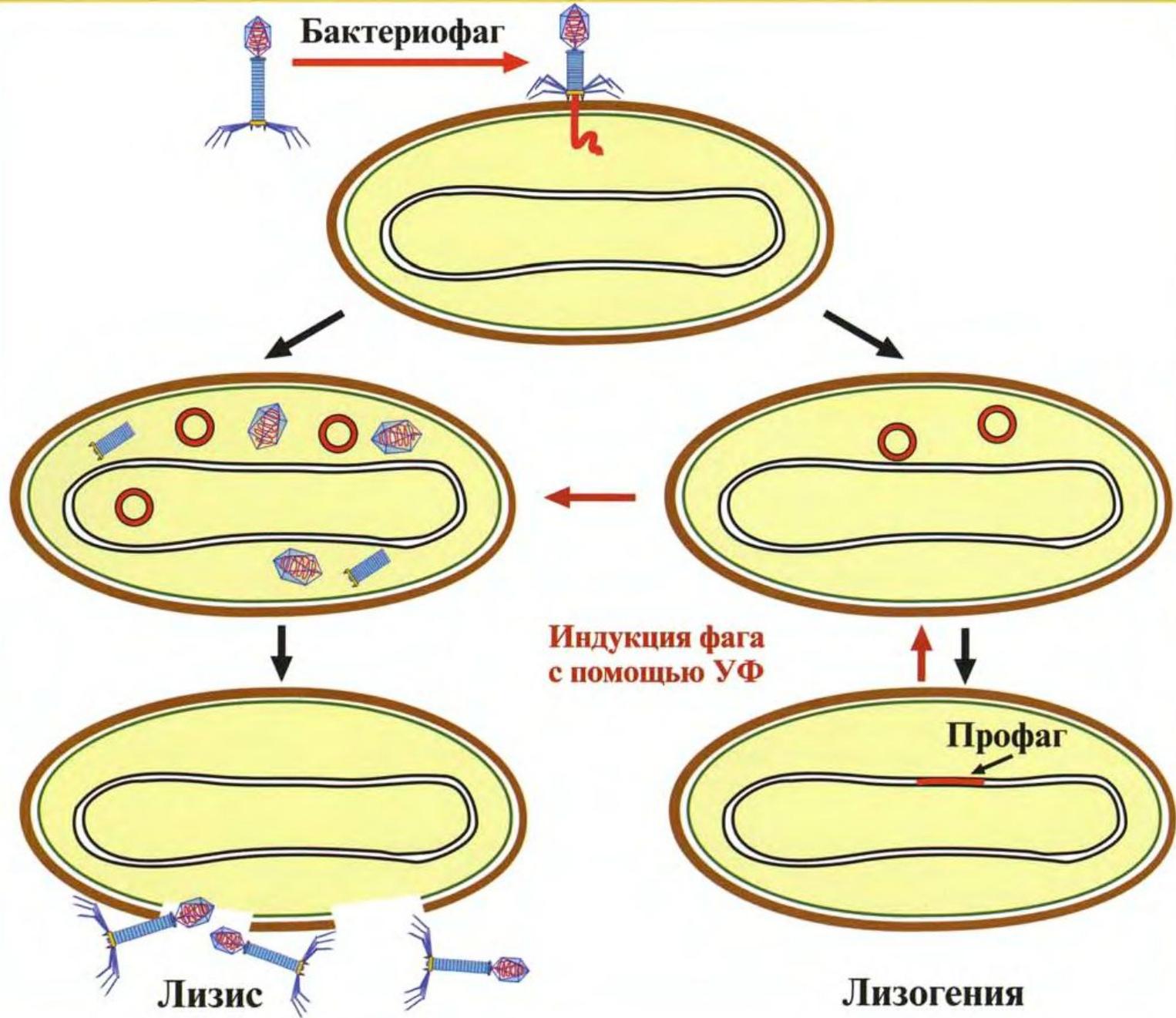
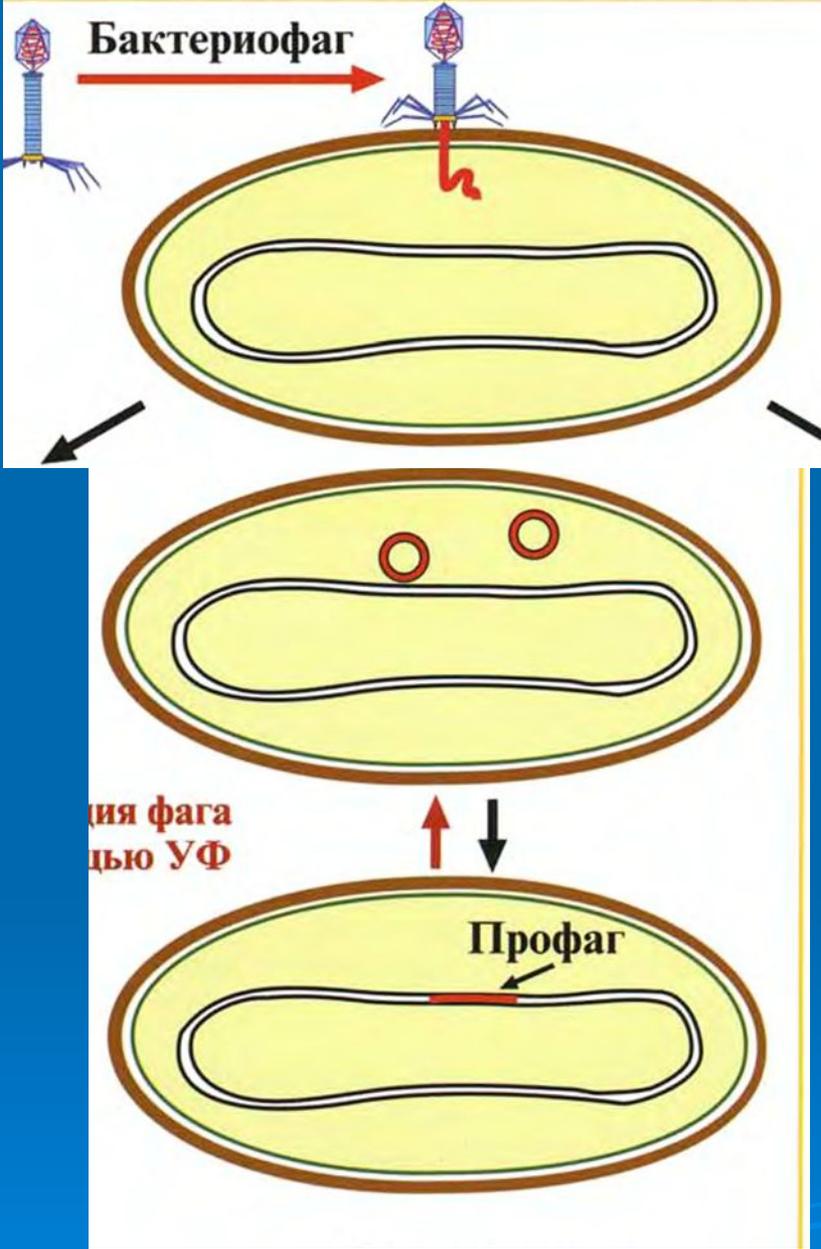


Рис. 4.19. Пути развития умеренного фага лямбда



- профаг – встроенная в хромосому бактериальной клетки нуклеиновая кислота фага (плазмиды, генетический материал, меняющий свойства МКО)
- лизогенная клетка – бактериальная клетка, несущая профаг
- лизогения – явление симбиоза микробной клетки с умеренным фагом
- лизогенная культура – культура, в которой имеется профаг

- Лизогенная конверсия – форма изменчивости, при которой бактериальная клетка, благодаря умеренному фагу, получает новые наследуемые признаки



# Практическое применение

- в промышленности, сельском хозяйстве
- в теоретических и научных исследованиях
- в медицине
  - в фагодиагностике
  - в фаготипировании
  - профилактике
  - лечении



# *Препараты бактериофагов*

- Иммунобиологические препараты, созданные на основе вирусов бактерий. Используются для диагностики, профилактики и лечения бактериальных инфекций
- Антибактериальный эффект, оказываемый препаратами бактериофагов, обусловлен специфическим лизисом патогенных бактерий в очаге воспаления под действием бактериофагов

# ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ФОРМЫ

- Жидкие фаги (применяли местно, перорально, в полости, внутримышечно, подкожно и внутривенно)
- Таблетированные (в том числе с кислотоустойчивым покрытием)
- Жидкий концентрат (очищен от белкового балласта)
- Мазь
- Линимент
- Гель
- Свечи
- Аэрозоли



# ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ БАКТЕРИОФАГОВ

- Заболевания дыхательных путей (пневмония, плеврит, ангина)
- Инфекции почек и мочевыводящих путей (цистит, пиелонефрит, уретрит)
- Заболевания желудочно-кишечного тракта (колит, энтероколит, брюшной тиф, дизентерия, сальмонеллез, дизбактериоз, диспепсия)
- Воспалительные заболевания желчного пузыря (холецистит)
- Инфекции кожи (пиодермия, фурункулез, абсцесс, инфекции ран)
- Препараты рекомендуются с лечебной и профилактической целью (при операциях на желудочно-кишечном тракте, при перитонитах, акушерских операциях, ампутациях и открытых переломах костей, ожогах, артритах и т.п.)

# ПРЕИМУЩЕСТВА ФАГОТЕРАПИИ

- Высокая специфичность
- Отсутствие побочных эффектов
- Отсутствие противопоказаний
- Не вызывают аллергии
- Могут применяться вместе с антибиотиками и иммунопрепаратами
- Активность в отношении антибиотико-резистентных штаммов
- Адаптация бактериофагов к современным возбудителям
- Не влияет на нормофлору кишечника
- Отсутствие побочных патологических реакций
- Бактериофаги могут быть использованы для лечения заболеваний беременных женщин, новорожденных и детей раннего возраста



# ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИОФАГОВ НА ИММУНИТЕТ

- Несмотря на способ применения (местное или общее), фаги проникают в кровь, лимфу и попадают в очаг воспаления, оказывая положительное влияние на иммунитет
- Под воздействием фага в первую очередь происходит активация фагоцитоза, повышается активность нейтрофилов, что препятствует рецидивированию инфекции и хронизации воспалительного процесса
- Отмечено снижение количества лейкоцитов и нейтрофилов, а уровень лимфоцитов повышается преимущественно за счет Т-лимфоцитов
- При лечении интести бактериофагом острой дизентерии отмечено повышение клеточного иммунитета в большей степени, чем при лечении антибиотиками

# *Критерий эффективности фаготерапии*

- **Перед использованием препарата необходимо тестировать его на литическую активность в отношении конкретной культуры (определение фагочувствительности возбудителя)**

# Экология стихийно циркулирующих бактериофагов

- в стационарах наряду с интенсивной циркуляцией госпитальных штаммов имеет место спонтанная циркуляция различных типов бактериофагов

## Экологические аспекты стихийной циркуляции бактериофагов

- Спонтанно циркулирующие фаги, не обладая достаточной вирулентностью, не способны оказывать ни клинического, ни эпидемиологического эффекта
- в госпитальных условиях возможно формирование устойчивых паразитарных экосистем, состоящих из возбудителя ГСИ (гнойно-септической инфекции), бактериофага и биотопа их совместного существования (раны больного)

## Слабая вирулентность фага обеспечена :

- Умеренностью большинства циркулирующих фагов
- Лизогенностью циркулирующих штаммов бактерий
- Другие свойства , приводящие к формированию резистентности культур к спонтанно циркулирующим с ними фагам

# Влияние данных экосистем на свойства госпитальных штаммов

- Образование МКО-ов с полирезистентностью к антибиотикам в результате
- формирования лизогенных культур,
- другого феномена, действие которого проявляется в условиях сосуществования культур микроба и спонтанно циркулирующих слабоактивных бактериофагов

# Недопустимо применение фаговых препаратов

не обладающих полной адаптацией и литической активностью к циркулирующим штаммам. В этом, очевидно, кроется недостаточная эффективность централизованно приготовленных коммерческих фагов

Профилактика формируемой лизогенности  
под воздействием спонтанно  
циркулирующих малоактивных фагов:

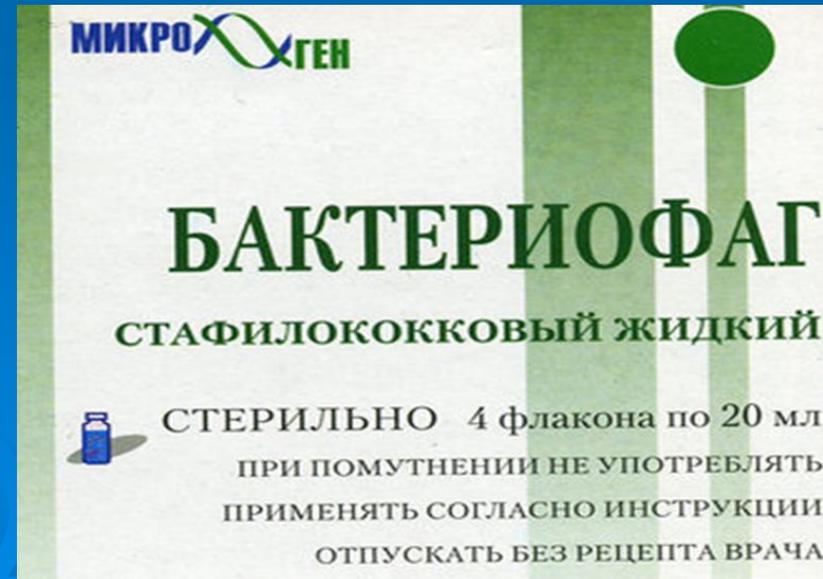
- **использование высоковирулентных адаптированных бактериофагов**



**Использование высокоактивных фагов, адаптированных к госпитальным штаммам, способных к ликвидации устойчивых саморегулирующихся взаимоотношений в паразитарных экосистемах и способных к широкому распространению, позволяет добиться не только клинического, но и выраженного эпидемиологического эффекта, проявляющегося в резком снижении частоты внутрибольничных заражений**

# Раневые бактериофаги (фильтраты фаголизатов бактерий)

- стафилококковый (стафилофаг)
- стрептококковый (стрептофаг)
- колифаг
- протейный (протеофаг, колипротейный)
- синегнойный (аеругинозофаг)
- пиополифаг (стаф., стрепт., энтерок., протей, синегн. и кишечная палочки)
- пиобактериофаг поливалентный (-»- + клебсиеллы пневмонии)



# *Кишечные бактериофаги (фильтраты фаголизатов бактерий)*

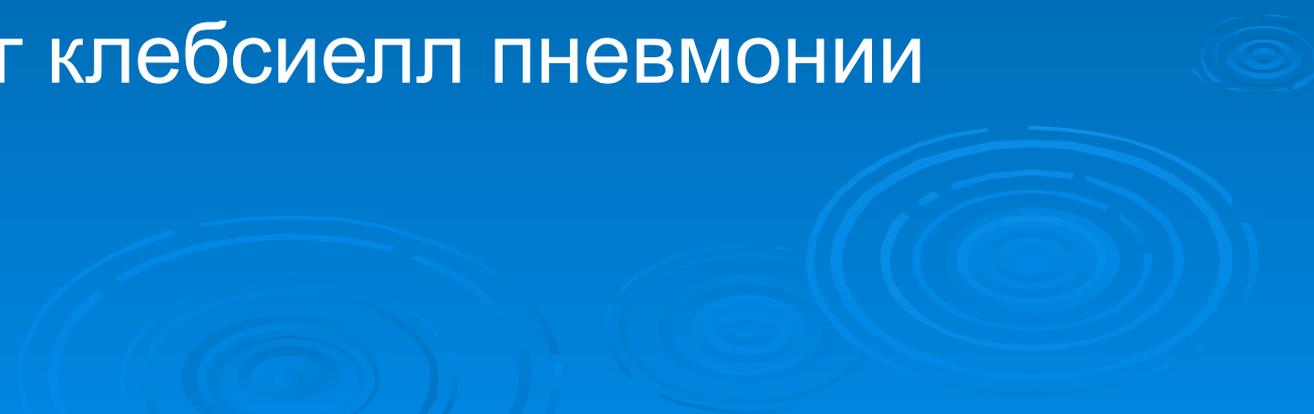
- дизентерийный (дизфаг – шигеллы Зонне и Флекснера)- жидк., табл.
- брюшнотифозный (сальм. Бр. тифа) -табл.
- сальмонеллезный (гр. А – паратиф А, гр. В – паратиф В, тифимуриум, гейдельберг, ньупорт, холера суис, ораниенбург, инфантис, Д – дублин, энтеритидис, Е – анатум, ньюландс) – табл., жидк.
- колифаг- жидк.

# Кишечные бактериофаги

- Интести (шигелл Зонне, Флекснера –1,2,3,4,6 типов сальмон. –паратифа А, В, тифимуриум, суис, инфантис, ораниенбург, ЭПКП, протей, стаф., энтерокок., синегнойн. палочка) - жидк. (перорально, ректально)
- Колипротейный - жидк.
- Колипротеофаг - табл.
- Синегнойный (аеругинозофаг) – жидк.

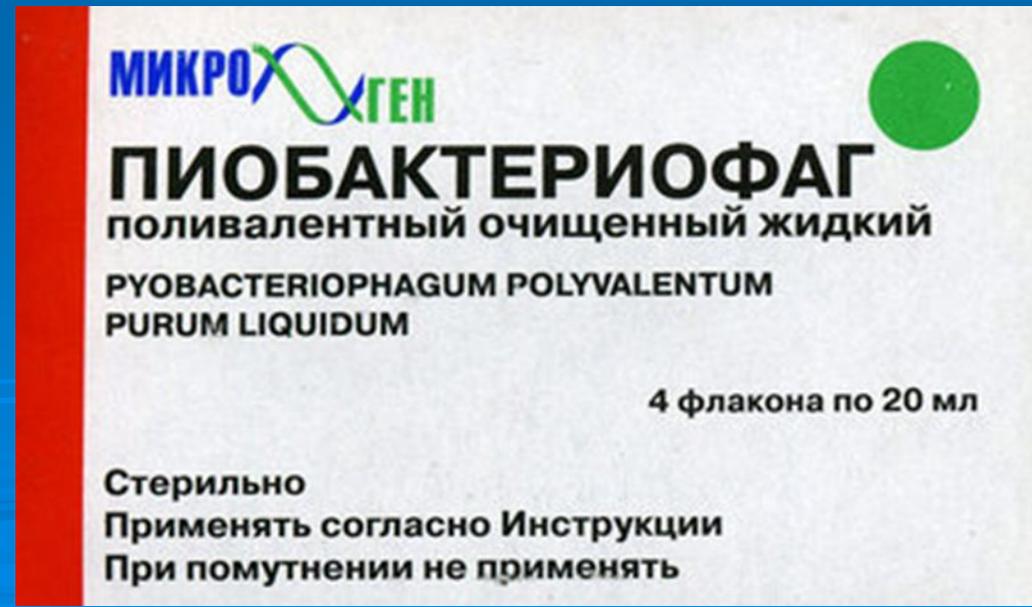


## *препараты бактериофагов*

- Пиобактериофаг поливалентный очищенный
  - Бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный
  - Бактериофаг клебсиелл пневмонии очищенный
- 

# Пиобактериофаг поливалентный очищенный жидкий

- Новый препарат, не имеющий мировых аналогов, разработан и выпускается в филиале "Иммунопрепарат" ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ, защищен патентами России, активен в отношении 82-89% бактерий *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*



## *Бактериофаг клебсиелл пневмонии очищенный жидкий*

- Очищен (97,7%-99,6%) от бактериальных метаболитов, токсинов и балластных веществ, не реактогенен, не вызывает токсических и аллергических реакций, не имеет противопоказаний к применению, активен (83-87%) в отношении бактерий *Klebsiella pneumoniae*, клинически эффективен в 82-89% случаев заболеваний

## *Бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный жидкий*

- активен в отношении бактерий *Klebsiella pneumoniae* (83-87%), *Klebsiella ozaenae* (82-86%), *Klebsiella rhinoscleromatis* (89-91%), впервые в мире используется для лечения и профилактики озы (клиническая эффективность 80-100%), склеромы (клиническая эффективность 81-83%)

# НОВЫЕ ПРЕПАРАТЫ

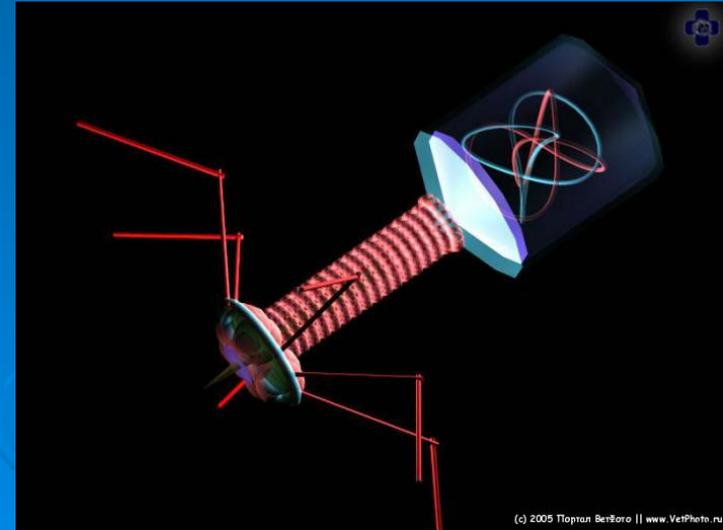
- *Комплексный биологический препарат «Интерфаг»* - создан для лечения заболеваний вирусно-бактериальной этиологии. Содержит интерферон и бактериофаги. Успешно применяли в стоматологической практике для лечения пародонтита (положительный эффект составил 85%, ремиссия продолжалась до 1 года)
- *Материал Bioderm* - состоит из перфорированного биодермического неядовитого полимера, содержащего бактериофаги и другие терапевтические составляющие. Не препятствует дыханию поврежденных тканей и одновременно предотвращает инфекцию

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЕРМЕНТОВ БАКТЕРИОФАГОВ

- Литические ферменты бактериофагов достаточно быстро разрушают клеточную стенку бактерий.
- Изучалась муреиновая гидролаза (лизин), которая продуцируется стрептококковым бактериофагом С(1). Этот фермент специфичен в отношении стрептококков групп А, С, и Е и не обладает активностью против других стрептококков и микроорганизмов, которые являются нормальными обитателями полости рта и носоглотки.
- Исследователи доказали, что 1000 единиц (10 нг) фермента достаточно для эрадикации  $10^7$  стрептококков в течение 5 секунд

# ЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ФАГОВ

- Для стафилококков – от 72 до 88%
- Для стрептококков – 60-82%
- Для кишечной палочки – 30-85%
- Для синегнойной палочки – 59-74%
- Для протей – 29-82%

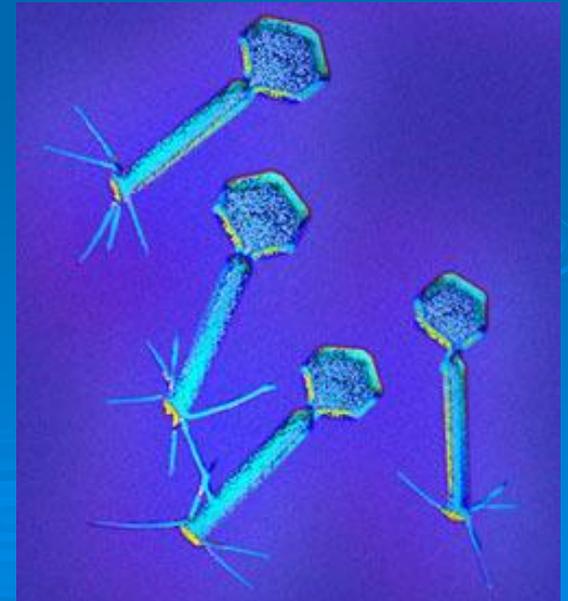


# ЛЕЧЕНИЕ РАН

*Бактериофаги вводят в рану путем:*

- распыления
- орошения
- смачивания салфеток и турунд
- вливания через дренажные трубки

*Клиническое улучшение и заживление ран происходит в среднем на 3-6 суток быстрее, чем при применении антибиотиков*



# ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

- Установлено сокращение дизентерийных заболеваний у получавших лечебные фаги в 2,3 раза.
- Получены результаты, свидетельствующие о высокой эффективности адаптированного сальмонеллезного бактериофага, что позволило справиться с внутригоспитальной эпидемией сальмонеллеза без антибиотиков, которая продолжалась в течение 3 лет и не поддавалась антибактериальной терапии.

# ЛЕЧЕНИЕ УРОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

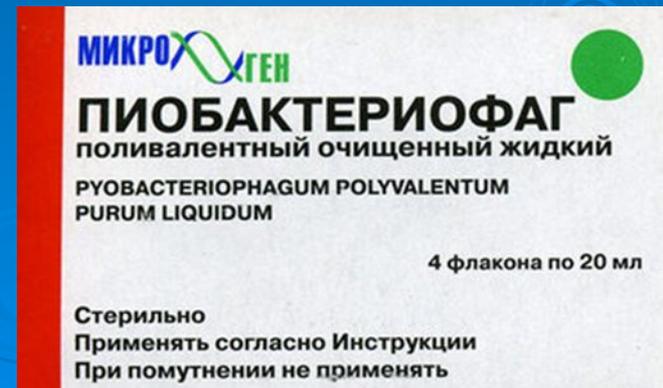
- Пероральное применение пиобактериофага и дополнительное введение по дренажам позволило санировать мочевые пути у урологических больных в 87,5% случаев и достичь клинико-лабораторного улучшения на 4-5-е сутки
- У больных, не получавших бактериофаги, нормализация этих показателей происходила на 2-3 суток позже, а полная санация достигнута только у 30% пациентов

# ЛЕЧЕНИЕ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ С ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫМИ ГНОЙНО- ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ

- При использовании бактериофагов отмечен положительный результат в 81,5% случаев, при лечении антибиотиками – в 60,6%.
- Заживление ран происходило без образования деформирующих рубцов и на 6 суток быстрее, чем без бактериофагов

# ЛЕЧЕНИЕ ОЖОГОВЫХ БОЛЬНЫХ

- Хороший эффект достигался при пероральном лечении таблетированным пиобактериофагом
- Значительно снижалась обсемененность ран
- Отмечено более гладкое течение раневого процесса
- Раны быстрее очищались от некротических тканей
- Быстрее происходило формирование грануляций
- В целом положительная клиническая динамика отмечена у 92,6% больных, у пациентов контрольной группы за те же сроки – в 42,5%
- Сократилось количество больных, из крови которых высевали микроорганизмы
- Улучшились показатели клеточного и гуморального иммунитета
- Летальность среди больных, получавших фаги, была в 5 раз меньше
- Использование в виде аппликаций на раны бактериофага из ацинетобактера позволило снизить уровень заболеваемости гнойно-септическими инфекциями, вызванными ацинетобактером в ожоговом стационаре в 2,2 раза



# ВЛИЯНИЕ АЭРОЗОЛЬНОЙ ОБРАБОТКИ ПОЛИФАГОМ НА МИКРОБНУЮ ОБСЕМЕНЕННОСТЬ ВОЗДУХА ПОМЕЩЕНИЙ ХИРУРГИЧЕСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ

Объекты исследования	Площадь (м <sup>2</sup> )	Выделенные бактерии	Обсемененность воздуха (КОЕ/ 10 м <sup>2</sup> )		Эффективность обработки
			исходная	после обработки полифагом	
1-я палата	24	S. aureus	64	4	93,8
2-я палата	24	S. aureus, E. coli	49	-	100
3-я палата	24	S. aureus	34	-	100
4-я палата	24	S. aureus, S. pyogenes, E. coli	67	-	100
5-я палата	24	S. aureus, S. pyogenes, E. coli	52	2	98
6-я палата	24	S. aureus, P. aeruginosa, E. coli	71	-	100
7-я палата	24	S. aureus, P. aeruginosa, E. coli	30	1	96,66
8-я палата	24	S. aureus	44	1	97,8
Операционная	49	S. aureus	18	-	100

- **применение бактериофагов в гинекологии:  
бактериальный вагиноз, уретрит, цистит,  
простатит, дисбактериоз влагалища и кишечника  
и другие**



# ОСНОВНЫЕ ПРЕДПРИЯТИЯ, ВЫПУСКАЮЩИЕ ПРЕПАРАТЫ БАКТЕРИОФАГОВ В РФ

- Биомед (г. Пермь)
- НПО «Иммунопрепарат»  
(г. Уфа)
- МП «Биофон» (г. Саратов)
- Предприятие по  
производству  
бактерийных препаратов  
(г. Нижний Новгород)



# НОВЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ В ФАГОТЕРАПИИ

- Активно изучаются новые пути терапии, одним из которых является лечение инфекций не живыми фагами, а *использование ферментов, лизирующих бактерии*. Действие ферментов, как и фагов, строго специфично. Предполагается использовать их в виде назального спрея.
- Кроме того, разрабатываются *средства личной гигиены* (зубная паста), а также *продукты питания* (йогурт), *содержащие бактериофаги*. Такое применение бактериофагов направлено на снижение колонизации патогенными микроорганизмами и отвечает концепции профилактической медицины.
- Наряду с созданием новых видов и форм лечебных бактериофагов целесообразно *проведение* дальнейших молекулярно-генетических и клинико-эпидемиологических *исследований по изучению биохимии взаимодействия и влияния фагов на биологические свойства возбудителей инфекционных заболеваний*

# Методы изучения вирулентных фагов

- качественные
- количественные
  - титрование фага по Аппельману
  - титрование фага по Грация

Lysis of *Bacillus anthracis* by the lytic phage gamma



**Материал – фильтраты, полученные с помощью бактериальных фильтров из**

- объектов внешней среды**
- органов**
- выделений человека и животных**
- культур микроорганизмов**

- степень вирулентности выражается титром
- титр – то максимальное разведение (минимальное количество), при котором проявляется литическое действие фага на бактериальную клетку

# *РНТФ –*

## *реакция нарастания титра фага*

- исследуемый материал (от больного, из объекта внешней среды)
- тест культура
- МПБ

**Благодарю за внимание**

