

Генетическая характеристика и спектр антибактериальной активности бактериофагов, входящих в состав промышленных серий лекарственного препарата Пиобактериофаг поливалентный очищенный

Н.В. Тикунова (tikunova@niboch.nsc.ru), Н.Н. Ворошилова (reza08@mail.ru), О.А. Польша (polygatschoa@yandex.ru), В.В. Морозова (morozova@niboch.nsc.ru), А.Ю. Тикун (arttik1986@gmail.com), А.М. Курильщикова (alexa.kur@gmail.com), В.В. Власов (vlassov@niboch.nsc.ru)

ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, г. Новосибирск

Резюме

Пиобактериофаг поливалентный очищенный активен в отношении 85,0 – 99,6% клинических штаммов бактерий *Proteus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, препарат превосходит по широте спектра антибактериальной активности большинство антибиотиков и сравним только с современными антибиотиками последних поколений. В отличие от большинства антибиотиков, препарат, не вызывает токсических и аллергических реакций, не имеет противопоказаний к применению, в том числе возрастных, разрешен к применению у новорожденных и детей раннего возраста, что дает возможность расценивать его как высокоэффективное и безопасное средство антибактериальной терапии. Результаты метагеномного анализа пиобактериофага поливалентного очищенного свидетельствуют о том, что в препарате содержатся только литические бактериофаги и отсутствуют умеренные (лизогенные), что гарантирует высокую концентрацию литических бактериофагов в препарате, высокую степень его антибактериальной и клинической эффективности и генетическую безопасность клинического применения.

Ключевые слова: бактерии, бактериофаги, антибиотики, антибактериальная активность, токсичность, побочные реакции

Genetic Characteristics and Range of Antibacterial Activity of the Bacteriophages, which are a Part of Manufactured Serie of Drugs – Pyobacteriophage Polyvalent Purified

N.V. Tikunova (tikunova@niboch.nsc.ru), N.N. Voroshilov (reza 08@mail.ru), O.A. Polygach (polygatschoa@yandex.ru), V.V. Morozova (morozova@niboch.nsc.ru), A.Y. Tikunov (arttik1986@gmail.com), A.M. Smokers (alexa.kur@gmail.com), V.V. Vlasov (vlassov@niboch.nsc.ru)

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences

Abstract

Pyobacteriophage polyvalent cleared (preparation) is active against 85.0 – 99.6% clinical strains of bacteria *Proteus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus spp.*, and *Pseudomonas aeruginosa*. The preparation surpasses the majority of antibiotics in the width of a range of antibacterial activity and is comparable only with modern antibiotics of the last generations. Unlike the majority of antibiotics, the preparation doesn't cause toxic and allergic reactions, has no contraindications to application, including age, is allowed for use for newborns and children of early age that gives the chance to regard him as highly effective and safe medicine for antibacterial therapy. The results of metagenomic analysis of pyobacteriophage polyvalent cleared indicate that the product contains only lytic bacteriophages and does not contain lysogenic bacteriophages, that guarantees high concentration of lytic bacteriophages in a preparation high degree of his antibacterial and clinical efficiency and genetic safety of its clinical application.

Key words: bacteria, bacteriophages, antibiotics, toxicity, antibacterial activity, side effects

Введение

Широкое и неконтролируемое применение антибиотиков привело к появлению резистентных и полирезистентных бактериальных штаммов, в частности *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Proteus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, являющихся причиной гнойно-септических и энтеральных инфекционных заболеваний различной локализации. Кроме того значительно осложня-

ется течение болезни, затрудняется или делается невозможным лечение больных, в том числе пациентов стационаров (отделений реанимации и интенсивной терапии, пульмонологии, травматологии и ортопедии, отоларингологии, ожоговых, хирургических, урологических, гинекологических) [1 – 12, 14, 21].

Применение антибиотиков может вызывать различные побочные явления в виде тошноты, головокружения, диареи, кожных высыпаний, зуда, дис-

биотических нарушений и аллергических реакций и ряд других нежелательных побочных эффектов [12]. Вызываемый приемом антибиотиков дисбактериоз кишечника, в свою очередь, может стать причиной возникновения вторичных гнойно-воспалительных заболеваний различной локализации, особенно у ослабленных больных и детей раннего возраста, поскольку слизистая кишечника становится «входными воротами» инфекции. При этом основными мишенями поражения являются кишечник, легкие и почки [13].

В связи с вышеизложенным актуальным является использование для лечения гнойно-воспалительных и энтеральных заболеваний различной локализации препаратов моно- и поливалентных бактериофагов. Одним из таких препаратов является пиобактериофаг поливалентный очищенный, представляющий собой смесь бактериофагов *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Proteus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*. Данный препарат благодаря своей очистке от бактериальных метаболитов и токсинов, безвреден и не реактогенен, не вызывает токсических и аллергических реакций, обладает широким спектром антибактериальной активности, в том числе и по отношению к бактериям, резистентным и полирезистентным к антибиотикам. Он не влияет на нормофлору кишечника и не вызывает дисбактериоза кишечника, а, наоборот, используется для его лечения. В отличие от антибиотиков пиобактериофаг поливалентный очищенный стимулирует иммунитет, способствуя активации Т-клеточного и фагоцитарного звеньев 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 [14 – 17].

Препарат используют для приема внутрь через рот, в виде клизм, аппликаций, орошений, введения в полости: ран, абсцессов, вагины, матки, носа, пазух носа, а также в дренированные – брюшную, плевральную, мочевого пузыря, почечной лоханки.

Пиобактериофаг поливалентный очищенный высокоэффективен (88,2 – 100%) при лечении заболеваний желудочно-кишечного тракта (гастроэнтероколит, холецистит, панкреатит, дисбактериоз кишечника); заболеваний новорожденных и детей раннего возраста (гастроэнтероколит, дисбактериоз кишечника, омфалит, пемфигус, пиодермия, септицемия и септикопиемия различной локализации); хирургических инфекций (раны, гнойные поражения кожи, ожоги, перитонит, плеврит, мастит, остеомиелит, абсцесс); урогенитальных инфекций (цистит, пиелонефрит, уретрит, простатит, эндометрит, вульвит, бартолинит, кольпит, сальпингоофорит); гнойно-воспалительных заболеваний уха, горла, носа, пазух носа, ротовой полости, глотки, гортани, бронхов, легких и плевры (отит, ангина, фарингит, ларингит, стоматит, пародонтит, гайморит, фронтит, бронхит,

пневмония, плеврит); посттравматического конъюнктивита, кератоконъюнктивита, гнойной язвы роговицы и иридоциклита а также при профилактике внутрибольничных инфекций [17 – 26].

Преимуществом всех препаратов бактериофагов перед антибиотиками, химизм и свойства которых неизменны, является постоянное обновление состава бактериофагов в препаратах для расширения спектра их антибактериальной активности путем введения новых высокоактивных вирулентных (литических) бактериофагов с широким спектром антибактериальной активности, соответствующих постоянно меняющемуся фаготипу и, следовательно, фагочувствительности свежeweыделенных от больных клинических штаммов бактерий.

Регулярное изменение состава бактериофагов в пиобактериофаге поливалентном очищенном требует постоянного мониторинга спектра его антибактериальной активности на больших выборках клинических штаммов бактерий родов *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Proteus*, видов – *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* и *E. coli*, а также мониторинга генетических характеристик бактериофагов в составе препарата для исключения попадания в него умеренных (лизогенных) бактериофагов и в соответствии с требованиями Директивы 2001/83/ЕС Европейского Парламента и Совета от 6 ноября 2001 г., касающимися обязательной генетической характеристики препаратов, содержащих «живые микроорганизмы», к которым относятся и бактериофаги [27]. Умеренные (лизогенные) бактериофаги имеют узкий спектр антибактериальной активности и низкую урожайность, конкурируют с литическими фагами при размножении на бактериальных клетках в процессе приготовления препарата, а также обладают способностью к лизогении и трансдукции бактериальным клеткам токсигенности и лекарственной устойчивости. Отсутствие умеренных (лизогенных) бактериофагов в препарате обеспечивает высокую концентрацию в нем литических бактериофагов, высокую степень его антибактериальной и клинической эффективности и генетическую безопасность клинического применения.

Цель работы – изучение генетических характеристик и спектра антибактериальной активности бактериофагов *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Proteus* spp., *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, входящих в состав препарата пиобактериофага поливалентного очищенного.

Материалы и методы

Объект исследования – пиобактериофаг поливалентный очищенный, коммерческая серия У60 производства филиала «Имунопрепарат» г. Уфа ФГУП «НПО Микроген» Минздрава России. В состав препарата входят бактериофаги *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Proteus* spp., *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, выделенные из различных источников (сточные бытовые отходы, озерная вода, почва) 15 крупнейших городов России.

Для определения спектра антибактериальной активности пиобактериофага поливалентного очищенного использовали 3696 клинических штаммов бактерий, выделенных от больных гнойно-септическими и энтеральными заболеваниями различной локализации, проживающими в следующих городах: Уфа, Москва, Санкт-Петербург, Вологда, Воронеж, Иркутск, Казань, Нижний Новгород, Пермь, Новосибирск, Нягюнь, Омск, Ростов на Дону, Рязань, Саратов, Сибай, Томск, Алма-Аты (Казахстан), Ашхабад (Туркмения), Вильнюс (Литва), Минск (Белоруссия), София (Болгария), Тбилиси (Грузия), Харьков (Украина), а также клинические штаммы бактерий, выделенные в Германии, Японии, Швеции, Финляндии (получены из ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи), в том числе: *S. aureus* (813 штаммов), *Streptococcus* spp. (192 штамма), *Proteus* spp. (619 штаммов), *P. aeruginosa* (778 штаммов), *K. pneumoniae* (835 штаммов), *E. coli* (459 штаммов).

Бактерии выращивали на мясо-пептонном бульоне (МПБ) и мясо-пептонном 1,5% агаре (МПА).

Изучение спектра антибактериальной активности пиобактериофага поливалентного очищенного проводили методом Аппельмана. Для этого в пробирку с 4,5 мл МПБ добавляли 0,5 мл препарата пиобактериофага (разведение 10^{-1}) и 0,1 мл смыва 18 – 24 часовой агаровой культуры бактериального штамма в стерильном растворе 0,9% натрия хлорида, содержащего 109 бактериальных клеток в 1 мл. В качестве контроля использовали аналогичный посев бактериального штамма без пиобактериофага. Опытный и контрольный посе́вы инкубировали при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 18 – 24 часов. Результаты оценивали по степени прозрачности пробы с бактериофагом в сравнении с контрольной пробой. Положительным считался результат опытного образца с пиобактериофагом, визуально отличавшийся по прозрачности от контрольного.

Исследование аномальной токсичности пиобактериофага поливалентного очищенного проводили согласно ГФ XIII (ОФС.1.7.1.0002.15) при подкожном введении 1 мл препарата белым мышам в дозе, превышающей в 2000 раз терапевтическую в расчете на единицу массы животного.

Изучение генетических характеристик бактериофагов, входящих в состав препарата, проводили метагеномным анализом. Для этого суммарную ДНК бактериофагов, входящих в состав препарата, выделяли с использованием метода фенол-хлороформной экстракции с предварительной ферментативной обработкой РНКазой А, ДНКазой I и Протеиназой К (Thermo Fisher Scientific, США) [28]. Парно-концевые библиотеки готовили с использованием набора NEBNext® Ultra™ DNA Library Prep Kit for Illumina® (New England Biolabs, США) и набора олигонуклеотидов NEBNext® Multiplex Oligos for Illumina® (New England Biolabs, США). Метагеномное секвенирование пиобактериофага вели с использованием платформы Miseq

Benchtop Sequencer (Illumina Inc, USA). Сборку геномов осуществляли с помощью программного обеспечения CLC Genomics Workbench software v.6.0.1. Анализ нуклеотидных последовательностей вели с помощью Nucleotide BLAST and MAFFT software с использованием баз данных GenBank database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), а также IMG, PATRICK, SEED, SwissProt, RefSeq, TrEMBL, KEGG, KO, COG, NOG.

Результаты и обсуждение

В работе представлены результаты исследования антибактериальной активности препарата пиобактериофага поливалентного очищенного, его токсичности, а также генетического анализа бактериофагов, входящих в состав препарата.

Исследования антибактериальной активности пиобактериофага поливалентного очищенного, проведенные с использованием 3696 клинических штаммов бактерий разных родов и видов, выделенных при гнойно-септических и энтеральных заболеваниях различной локализации, в различных регионах Российской Федерации, а также в городах Белоруссии, Болгарии, Грузии, Казахстана, Литвы, Туркмении, Украины. Японии, Германии, Швеции, Финляндии, показали, что пиобактериофаг поливалентный очищенный активен в отношении 85,0 – 99,6% клинических штаммов *Proteus* spp., *Streptococcus* spp., *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Staphylococcus* spp., *P. aeruginosa* и по широте спектра антибактериальной активности превосходит большинство антибиотиков, сравним только с современными антибиотиками последних поколений (табл. 1).

Установлено также, что пиобактериофаг поливалентный очищенный был высокоактивен в тесте по Аппельману в отношении полирезистентных к антибиотикам бактериальных штаммов, продуцирующих бета-лактамазы расширенного спектра действия, в том числе *K. pneumoniae* (93,6% протестированных штаммов), *E. coli* – (100% штаммов), метициллинрезистентных *S. aureus* (90,0% штаммов), естественно резистентных *P. aeruginosa* (100% штаммов).

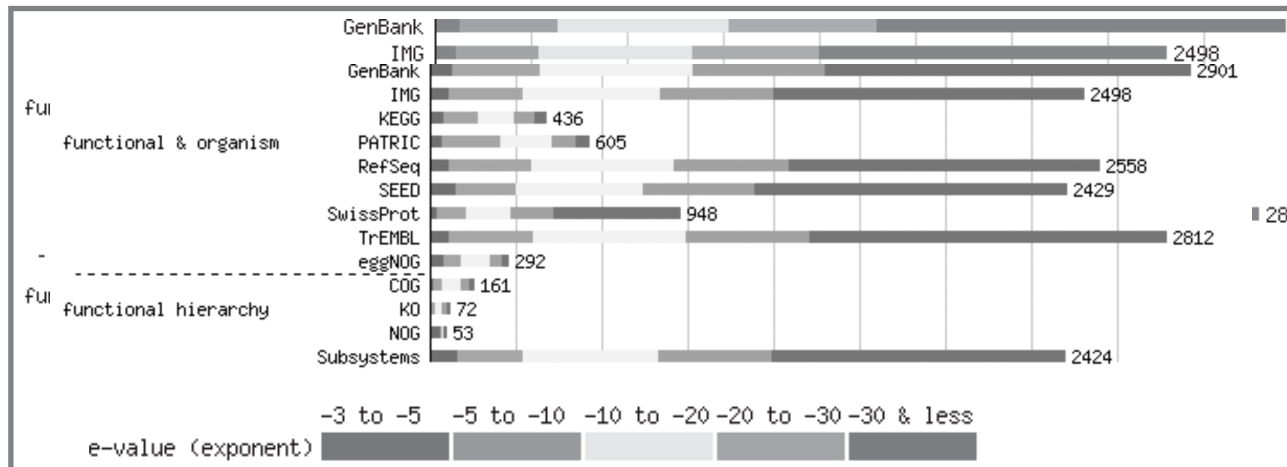
Вместе с тем сравнительный анализ литературных данных с результатами собственных исследований чувствительности к антибиотикам клинических штаммов бактерий, выделенных у больных при инфекционной патологии различной локализации (см. табл. 1), показал, что:

- для 60 – 100% штаммов бактерий *P. aeruginosa* установлена резистентность к большинству антибиотиков, исключение – колистин и миропенем, чувствительность к которым сохраняет 90% и 100% штаммов соответственно, при этом антибактериальная активность пиобактериофага поливалентного очищенного достигает 99,6%;
- для бактерий *K. pneumoniae* установлена резистентность к большинству антибиотиков

Таблица 1.
Сравнительные данные антибактериальной активности препарата пиобактериофага и антибиотиков

Исследованные бактерии	Антибактериальная активность препарата пиобактериофага поливалентного очищенного, г.Уфа (собственные исследования)		Антибактериальная активность антибиотиков и побочные реакции на их применение (по литературным данным)			
	Количество штаммов	Доля чувствительных штаммов (%)	Доля чувствительных штаммов (%)	Возможные побочные действия активных антибиотиков	Доля резистентных штаммов (%)	Источники информации
<i>S. aureus</i>	813	94,5	Цефалоспорины – 100; фузидиевая к-та – 96,7; нетилмицин – 79,3; амикацин – 65,2%	Аллергические реакции, дисбактериоз кишечника, гепатотоксичность, нейротоксичность, нефротоксичность, ототоксичность	Метициллин – 84 – 92,8; оксациллин – 72,6; амикацин – 92,8; ципрофлоксацин – 85,9; левофлоксацин – 64,7; линкомицин – 82,2; эритромицин – 91,0; множественная резистентность – 35 – 42	[1 – 3, 6, 7]
<i>P. aeruginosa</i>	778	99,6	Колистин – 90; миропинем – 100	Аллергические реакции (ангионевротический отек), дисбактериоз кишечника, гепатотоксичность, нефротоксичность, нейротоксичность, токсическое влияние на дыхательную систему	Пенициллины – 100; тетрациклины – 100; аминогликозиды – 60 – 85; фторхинолы – 77; цефалоспорины – 60 – 85	[1–3]
<i>Proteus spp.</i>	619	85,0	Ципрофлоксацин – 90,7	Аллергические реакции, дисбактериоз кишечника, гепатотоксичность, нейротоксичность, нефротоксичность, ототоксичность и пр.	Пенициллины – 100; тетрациклины – 100; аминогликозиды – 100	[8]
<i>K. pneumoniae</i>	835	91,1	Колистин – 100 миропинем – 0 – 90 имипенем – 90	Аллергические реакции (ангионевротический отек), дисбактериоз кишечника, гепатотоксичность, нефротоксичность, ототоксичность	Пенициллины – 97; тетрациклины – 92 – 100; амикацин – 33,4; меропенем – 96,5; азтреонам – 87,8; цефепим – 50; цефтазидим – 33,3; ципрофлоксацин – 99,1	[1, 2, 4]
<i>Streptococcus spp.</i>	192	85,0	Эритромицин – 72,0 – 82,5; линкомицин – 72,4 – 82,5; флоксацин – 65; ванкомицин – 62	Аллергические реакции, дисбактериоз кишечника, гепатотоксичность, нефротоксичность и пр.	Тетрациклин – 41,3; котримоксазол – 31,9; ципрофлоксацин – 45,7; триметоприма/сульфаметоксазол – 56,9	[10,11]
<i>E. coli</i>	459	91,2	Амоксилав – 71,4; гентамицин – 71,0; ципрофлоксацин – 71,4; амикацин – 70,4 – 85,7; цефипим – 71,0; карбапенемы – 99,1; меропенем – 100	Аллергические реакции, дисбактериоз кишечника, гепатотоксичность, нейротоксичность, нефротоксичность, ототоксичность и пр.	Цефтриаксон – 57,1; цефтазидим – 42,9; цефазолина – 50	[2, 7, 9]

Рисунок 1.
Картирование собранных последовательностей ДНК пиобактериофага с использованием различных баз данных



Примечание: Справа приведено количество идентифицированных последовательностей с использованием каждой из баз данных. Количественные соотношения последовательностей: наиболее высокому уровню достоверности соответствует более плотный цвет. Шкала достоверности (E-value) приведена снизу

(по разным данным – от 33,3 до 97% штаммов), исключение – имипенем, амикацин, колистин (активны против > 90% штаммов), при этом антибактериальная активность пиобактериофага поливалентного очищенного к *K. pneumoniae* достигает 91,1%;

- для бактерий рода *Stahylococcus* spp. выявлена резистентность к большинству антибиотиков – 64,7 – 92,8% протестированных штаммов, активность сохранили только ванкомицин (100% штаммов), линезолид (96,7% штаммов), фузидиевая кислота (79,3% штаммов) и новые аминогликозидные антибиотики – нетилмицин и амикацин (65,2% штаммов), антибактериальная активность пиобактериофага поливалентного очищенного достигает 94,5%;
- для бактерий рода *Proteus* spp. показана 100% резистентность к антибиотикам пенициллинового, тетрациклинового, аминогликозидового рядов, активным антибиотиком для 90,7% штаммов был только цiproфлоксацин, антибактериальная активность пиобактериофага поливалентного очищенного составляет 85,0%;
- для бактерий *E. coli* установлена 28 – 87% резистентность к большинству антибиотиков, исключение – карбапенем (99,1% штаммов) и меропенем (100% штаммов), при этом антибактериальная активность пиобактериофага поливалентного очищенного достигает 91,2%;
- для бактерий рода *Streptococcus* spp. в разных работах показана резистентность к большинству антибиотиков – 27 – 57% исследованных штаммов, активность сохранили только цiproфлоксацин (44,3% штаммов), эритромицин (82,5% штаммов), клиндамицин (95% штаммов), флоксацин (64,7% штаммов), ванкомицин (61,8% штаммов), цiproфлоксацин (45,7% штаммов), антибактериальная активность пиобактериофага поливалентного очищенного составляет 85,0%.

Таким образом, чувствительность клинических штаммов вышеперечисленных бактерий к большинству антибиотиков, за исключением нескольких антибиотиков, невысока, в то время как пиобактериофаг поливалентный очищенный продемонстрировал широкий спектр антибактериальной активности.

В ходе исследований нами было показано, что препарат пиобактериофага поливалентного очищенного в экспериментах аномальной токсичности не вызывал гибели животных и падения их веса при парентеральном введении в дозе, превышающей в 2000 раз терапевтическую, в расчете на единицу массы тела животного, что свидетельствует о безвредности препарата и связано с тем, что технологии приготовления пиобактериофага поливалентного очищенного предусматривают использование способов мембранного разделения и обеспечивают отсутствие токсических и аллергических реакций на применение препарата, в том числе и дисбактериоза кишечника. Поэтому препарат не имеет противопоказаний к применению, в том числе и возрастных, разрешен к применению у новорожденных и детей раннего возраста безвреден, ареактогенен и высокоэффективен в клинической практике.

При этом, как известно, антибиотики имеют ряд ограничений при назначении отдельным категориям больных (см. табл. 1).

Для изучения генетических характеристик бактериофагов, входящих в состав препарата пиобактериофага поливалентного очищенного, использовали метод метагеномного анализа. Анализ собранных последовательностей ДНК пиобактериофага с использованием различных баз данных показал, что последовательности картируются с высоким уровнем достоверности при использовании баз данных GenBank, IMG, RefSeq, SEED, SwissProt, TrEMBL (рис. 1). При этом установлено, что в препарате находится ряд представите-

Таблица 2.
Генетические характеристики, семейственная, родовая и видовая принадлежность бактериофагов в составе пиобактериофага поливалентного очищенного

Родовая и видовая специфичность бактериофагов в составе пиобактериофага	Род/вид бактериофага	Семейство	Жизненный цикл
<i>K. pneumoniae</i>	<i>phiKMV-likevirus, T7likevirus</i>	<i>Podoviridae</i>	Литический
<i>P. aeruginosa</i>	<i>phiKMVlikevirus, Luz24likevirus</i>	<i>Podoviridae</i>	Литический
<i>Staphylococcus spp</i>	<i>Twortlikevirus</i>	<i>Myoviridae</i>	Литический
<i>Streptococcus spp</i>	<i>Sap6likevirus</i>	<i>Siphoviridae</i>	Литический
<i>Proteus spp</i>	<i>phiKMVlikevirus</i>	<i>Podoviridae</i>	Литический
<i>E. coli</i>	<i>T4likevirus</i>	<i>Myoviridae</i>	Литический

лей родов *T4likevirus* и *Twortlikevirus* из семейства *Myoviridae*; в единичных вариантах присутствуют фаги, близкие представителям видов unclassified *phiKMV-like phages*, родов *Luz24likevirus* и *T7-like* из семейства *Podoviridae*, а также представителям родов *Jerseylikevirus* из семейства *Siphoviridae*.

С большой долей вероятности можно заключить, что в составе препарата пиобактериофага поливалентного очищенного представлены:

- бактериофаги *K. pneumoniae*, принадлежащие к семейству *Podoviridae*, роды *phiKMV-likevirus* и *T7likevirus* (табл. 2), наиболее близкие представители – бактериофаги K11 [номер доступа в базе данных GenBank EU734173] и KP34 [GQ413938];
- бактериофаги *P. aeruginosa*, принадлежащие к семейству *Podoviridae*, роды *phiKMVlikevirus* и *Luz24likevirus*, наиболее близкие представители – бактериофаги phiKMV [NC_005045] и TL [NC_023583];
- бактериофаги *Staphylococcus spp.*, принадлежащие к семейству *Myoviridae*, род *Twortlikevirus*, наиболее близкие представители – бактериофаги MSA6 [JX080304], Sb-1 [NC_023009] и IME-SA119 [KR908644];
- бактериофаги *Streptococcus spp.*, принадлежащие к семейству *Siphoviridae*, род *Sap6likevirus*, наиболее близкий представитель рода – бактериофаг VD13 [KJ127303];
- бактериофаги *Proteus spp.*, принадлежащие к семейству *Podoviridae*, род *phiKMVlikevirus*, наиболее близкий представитель – бактериофаг PM16 [KF319020];
- бактериофаги *E. coli*, принадлежащие к семейству *Myoviridae*, род *T4likevirus*, наиболее близкие представители – бактериофаги RB3 [KM606994] и RB69 [AY303349].

Полученные данные свидетельствуют о том, что в составе пиобактериофага поливалентного очищенного содержатся представители родов и видов, включающих литические бактериофаги, и отсутствуют умеренные (лизогенные) бактериофаги, что

обеспечивает высокую концентрацию литических бактериофагов в препарате, высокую степень антибактериальной и клинической эффективности препарата и безопасность его применения.

Выводы

1. Пиобактериофаг поливалентный очищенный содержит исключительно литические бактериофаги *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Proteus spp.*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* и *E. coli* и не содержит умеренные (лизогенные), что подтверждается данными метагеномного анализа, гарантирующего высокую степень антибактериальной и клинической эффективности препарата, его безопасность.
2. Пиобактериофаг поливалентный очищенный, в отличие от большинства антибиотиков, обладает широким спектром антибактериальной активности в отношении клинических штаммов бактерий, в том числе в отношении *Staphylococcus spp.* (94,5%), *Streptococcus spp.* (85,0%), *Proteus spp.* (85,0%), *P. aeruginosa* (99,6%), *K. pneumoniae* (91,1%), *E. coli* (91,2%). По широте спектра антибактериальной активности препарат сравним только с современными антибиотиками, в том числе амикацином, ванкомицином, линезолидом, имипенемом, колистином, цiproфлоксацином, миропенемом, фузидиевой кислотой, нетилмицином,
3. В пиобактериофаге поливалентном очищенном отсутствуют бактериальные метаболиты и токсины, поэтому, в отличие от большинства антибиотиков, не реактогенен, не вызывает побочных нежелательных реакций, дисбактериоза кишечника.

Препарат не имеет противопоказаний к назначению, в том числе возрастных (разрешен к применению у новорожденных и детей раннего возраста), высокоэффективен клинически, что дает возможность расценивать его как высокоэффективное средство антибактериальной терапии, альтернативное антибиотикам.

Литература

1. Черненко Т.В., Борисова Л.А., Александрова И.В., Косолапов Д.А. Возбудители гнойно-септических внутрибольничных инфекций в реанимационных отделениях стационара скорой медицинской помощи. Медицинский алфавит. Эпидемиология и гигиена. 2013; (2): 30 – 33.
2. Шамаева С.Х., Миронов А.Ю., Матвеев А.С., Потапов А.Ф., Голубев А.М. Микробиологический мониторинг патогенов внутрибольничной интраабдоминальной инфекции и их антибиотикорезистентности у экстренных хирургических больных в отделении реанимации и интенсивной терапии. Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2010; 4: 117 – 121.
3. Габриэлян Н.И., Горская Е.М., Спирина Т.С., Прудникова С.А., Ромашкина Л.Ю. Исследование антибиотико- и фагочувствительности нозокомиальных штаммов микробов, выделенных от пациентов трансплантологической клиники. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2011; XIII (3): 26 – 32.
4. Григорьевская З.В., Петухова И.Н., Дмитриева Н.В. Вспышка внутрибольничной инфекции, вызванной мультирезистентными (MDR) штаммами *K. pneumoniae*. Сибирский онкологический журнал. 2014; 2 (62): 5 – 8.
5. Шайхразиева Н.Д. Эпидемиологический мониторинг внутрибольничных инфекций в хирургическом стационаре. Казанский медицинский журнал, 2007; том 88 (1): 87, 88.
6. Андреева С.В., Бахарева Л.И., Валева Д.М. Динамика антибиотикорезистентности у ведущих возбудителей ожоговых инфекций. Вестник Челябинского государственного университета. 2013; 7 (2): 60, 61.
7. Воробьева О.Н., Камалева М.Ф., Денисенко Л.И., Дошица А.С., Дулепо С.А. Антибиотикорезистентность возбудителей госпитальных инфекций в отделении реанимации. Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. 2009; 4: 30 – 36.
8. Швед С.И., Науменко З.С., Розова Л.В., Шалагинова Т.С., Ключин Н.М. Распространенность и лекарственная устойчивость *Proteus* spp. в ортопедо-травматологических отделениях. Генезис Ортопедии 2004; 3: 20 – 24.
9. Лямин А.В., Жестков А.В. Антибиотикорезистентность представителей семейства Enterobacteriaceae, выделенных со слизистых верхних дыхательных путей доноров крови. Пульмонология. Аллергология. 2007; 4 (23): 22 – 24.
10. Боронина Л.Г., Блинова С.М., Лавриненко Е.В. Антибиотикорезистентность основных патогенов, вызывающих бронхолегочные заболевания у детей на среднем Урале в 2005 – 2009гг. Вестник Уральского медицинской академической науки. 2010; 2: 7 – 11.
11. Дьяченко С.В., Запорожский И.А., Слободенюк Е.В. Антибиотикорезистентность *S. pneumoniae* у больных с инфекциями дыхательных путей. Дальневосточный Журнал Инфекционной патологии 2009; 14: 38 – 40.
12. Белопольская Х.А., Сидорова И.С., Шахгиреева Л.С., Белопольский А.А. Возможности фаговой терапии гинекологической инфекции. Трудный пациент. 2014; 12 (8 – 9): 6 – 9.
13. Гайдеров А.А. Изучение свойств штаммов *Escherichia coli* M-17 и *Bacillus subtilis* 1719 на модели экспериментального дисбиоза: Автореф дис. ... канд. мед. наук. Москва; 2007.
14. Султанов Н.М., Ворошилова Н.Н., Азнабаева Л.Ф., Арефьева Н.А. Сравнительное изучение антибактериальной и иммунотропной активности препарата пиобактериофага поливалентного очищенного и антибиотиков при терапии хронических гнойных риносинуситов. Вестник уральской медицинской академической науки. 2006; 3 (1): 236 – 238.
15. Арефьева Н.А., Азнабаева Л.Ф., Ворошилова Н.Н., Султанов Н.М. Сравнительное изучение влияния способов лечения на состояние местного иммунитета слизистых оболочек носа больных хроническим гнойным риносинуситом. Актуальные проблемы науки и образования, II научная конференция с международным участием. Варadero (Куба). Фундаментальные исследования. 2007; 4: 51 – 53.
16. Арефьева Н.А., Султанов Н.М., Азнабаева Л.Ф., Ворошилова Н.Н. Риноцитогаммы больных хроническим гнойным риносинуситом при лечении Пиобактериофагом поливалентным очищенным. Материалы XVII съезда оториноларингологов России. Уфа; 2006: 249 – 250.
17. Даутова З.А., Фаттахов Б.Т., Ворошилова Н.Н., Серезин И.Н. Результаты применения пиобактериофага поливалентного очищенного жидкого при травматических кератитах и язвах роговицы. Материалы Всероссийской конференции «Актуальные вопросы разработки, производства и применения иммунобиологических и фармацевтических препаратов». Уфа; 2000: 58 – 61.
18. Хайруллин И.Н., Поздеев О.К., Шайморданов Р.Ш. Эффективность применения специфических бактериофагов в лечении и профилактике хирургических послеоперационных инфекций. Казанский медицинский журнал. 2002; 4: 258 – 261.
19. Ворошилова Н.Н., Казакова Т.Б., Боговазова Г.Г., Алферова Э.В., Усманова С.С. Эпидемиологическая и клиническая эффективность препаратов бактериофагов при лечении и профилактике инфекционных заболеваний. Создание и перспективы применения медицинских иммунобиологических препаратов. Материалы научной конференции. Пермь; 2008: 91 – 94.
20. Ворошилова Н.Н., Казакова Т.Б., Боговазова Г.Г., Усманова С.С., Алферова Э.В. Сравнительное изучение антибактериальной и клинической эффективности препаратов бактериофагов и антибиотиков при лечении энтеральных заболеваний, вызванных условно-патогенными бактериями. Материалы 12 Международного Славяно-Балтийского научного форума «Санкт-Петербург-Гастро-2010». Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. 2010; 2 (3): 18 – 19.
21. Пушкарев А.М., Ворошилова Н.Н., Коржавин Г.В. Этиотропная терапия нозокомиальных инфекций у послеоперационных больных в урологическом стационаре. Материалы III научно-практической Всероссийской конференции «Новые технологии в хирургии». Уфа; 1998: 258.
22. Лахно В.М., Бордуновский В.И. Применение фаготерапии в хирургической практике. Вестник хирургии. 2001; 160 (1): 122 – 125.
23. Бессмертная Н.Г., Чижова Г.В., Владимирович Н.Ю., Когут Е.П. Эффективность применения пиобактериофага у беременных с пиелонефритом. Современные методы диагностики и лечения в акушерстве и гинекологии. Сборник научных трудов. Саратов; 1999: 35 – 36.
24. Заривчакский М.Ф., Мугатаров И.Н., Швецова Ю.А. Использование препаратов бактериофагов для лечения гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей. Создание и перспективы применения медицинских иммунобиологических препаратов: материалы всероссийской научно-практической конференции. Пермь; 2008: 104 – 106.
25. Захарова Ю.А., Белокрылов Н.М. Клинический случай лечения пациента с остеомиелитом, вызванным полирезистентными штаммами *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* с использованием метода фаготерапии. Создание и перспективы применения медицинских иммунобиологических препаратов: Материалы всероссийской научно-практической конференции. Пермь; 2008: 96, 97.
26. Кисина В.И., Перепанова Т.С., Забириев К.И., Беднова В.Н., Васильев М.М., Дарбеева О.С. и др. Фаготерапия воспалительных урогенитальных заболеваний у женщин. Вестник дерматологии и венерологии. 1996; 5: 45 – 48.
27. Verbeke G., Pirnay J.-P., Lavigne R., Jennes S., De Vos D., Casteels M., Huys I. Call for a dedicated european legal framework for bacteriophage therapy. Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis. 2014; 62 (2): 117 – 129.
28. Bacteriophage and its vectors. In: Molecular Cloning, Eds. Sambrook J, Russell D. Cold spring harbour laboratory press. New York: 2001: 187 – 303.

References

1. Chernen'kaya T.V., Borisova L.A., Alexandrova I.V., Kosolapov D.A. Pathogens septic nosocomial infections in intensive care units ambulance hospital. Medical alphabet. Epidemiology and hygiene. 2013; (2): 30 – 33 (in Russian).
2. Shamayeva S.H., Mironov A.Yu., Matveev A.S., Potapov A.F., Golubev A.M. Microbiological monitoring of pathogens of nosocomial intra-abdominal infections and their antibiotic resistance in emergency surgical patients in the intensive care unit. Kursk scientific and practical bulletin «Chelovek I Ego Zdorovye». 2010; 4: 117 – 121 (in Russian).
3. Gabrielyan N. I., Gorskaya E. M., Spirina T.S., Prudnikova S. A., Romashkina L.Yu. Investigation of sensitivity of nosocomial microbial strains isolated from clinical transplant patients to antibiotics and phages. Herald of Transplantation and Artificial Organs. 2011; XIII (3): 26 – 32 (in Russian).
4. Grigoryevskaya Z.V., Petukhova I.N., Dmitriyeva N. V. The outbreak of the intrahospital infection caused by multiresistant (MDR) strains of *K. pneumoniae*. Siberian oncological magazine. 2014; 2 (62): 5 – 8 (in Russian).
5. Shaykhrayeva N.D. Epidemiological monitoring of intrahospital infections in a surgical hospital. Kazan medical magazine, 2007; 88 (1): 87, 88 (in Russian).
6. Andreyeva S.V., Bakharev L.I., Valeeva D.M. Dynamics of antibiotic resistance to major pathogens of burn infections. Herald of the Chelyabinsk state university. 2013; 7 (2): 60 – 61 (in Russian).
7. Vorobyova O.N., Kamaleeva M.F., Denisenko L.I., Doshchitsina A.S., Dulepo S. A. Antibiotic resistance of pathogens of nosocomial infections in intensive care unit. The Russian medicobiological messenger of the academician I.P. Pavlov. 2009; 4: 30 – 36 (in Russian).
8. Swed S.I., Naumenko Z.S., Rozova L.V., Shalaginova T.S., Klyushin N.M. Prevalence of drug resistance *Proteus* spp. in orthopedic and trauma hospital departments. Genus Orthopedii of 2004; 3: 20 – 24 (in Russian).
9. Lyamin A.V., Zhestov A.V. Antibiotic resistance of representatives of the family Enterobacteriaceae isolated from the mucous of the upper respiratory tract of blood donors. Pulmonology. Allergology. 2007; 4 (23): 22 – 24 (in Russian).
10. Boronina L.G., Blinova S.M., Lavrinenko E.B. Antibiotic resistance major pathogens of bronchopulmonary diseases in children in the Middle Urals in 2005 – 2009. Herald of the Ural medical academic science. 2010; 2: 7 – 11 (in Russian).
11. Dyachenko S.V., Zaporozhsky I.A., Slobodenyuk E.V. Antibiotic resistance of *S. pneumoniae* at patients with infections of respiratory tract. Far East Magazine of Infectious Pathology 2009; 14: 38 – 40 (in Russian).

12. Belopolskaya H.A., Sidorova I.S., Shakhgireeva L.S., Belopolsky A.A. Possibilities of fagovy therapy of a gynecologic infection. *Difficult patient*. 2014; 12 (8 – 9): 6 – 9 (in Russian).
13. Gayderov A.A. Studying the properties of *Escherichia coli* M-17 and *Bacillus subtilis* strains in 1719 on the model of experimental dysbiosis. Doctorate of med. sci. diss. Moscow; 2007 (in Russian).
14. Sultanov N.M., Voroshilova N.N., Aznabayev L.F., Arefyeva N.A. A comparative study of the antibacterial activity of the drug and immunotropic Piobakteriofag polyvalent purified and antibiotics for the treatment of chronic suppurative rhinosinusitis. *Herald of the Ural medical academic science*. 2006; 3 (1): 236 – 238 (in Russian).
15. Arefyeva N.A., Aznabayeva L.F., Voroshilova N.N., Sultanov N.M. Comparative study of the effect of treatments on the state of local immunity of the nasal mucosa of patients with chronic suppurative rhinosinusitis. *Actual problems of science and education, II scientific conference with the international participation. Varadero (Cuba). Basic researches*. 2007; 4: 51 – 53 (in Russian).
16. Arefyeva N. A., Sultanov N. M., Aznabayeva L.F., Voroshilova N.N. Rinotsitogramma of patients with a chronic suppurative rinosinuit at treatment by Piobakteriofag polyvalent cleared. *Materials XVII of congress of otorhinolaryngologists of Russia. Ufa. 2006: 249 – 250 (in Russian)*.
17. Dautova Z.A., Fattakhov B.T., Voroshilova N.N., Serezhin I.N. The results of applying piobakteriofaga polyvalent purified liquid in traumatic keratitis and corneal ulcers. *Materials of the All-Russian conference «Topical Issues of Development, Production and Application of Immunobiological and Pharmaceutical Preparations»*. Ufa. 2000: 58 – 61 (in Russian);
18. Khayrullin I.N., Pozdeev O.K., Shaymordanov R. Sh. The effectiveness of specific bacteriophages in the treatment and prevention of surgical postoperative infections. 2002; 4: 258 – 261 (in Russian).
19. Voroshilova N.N., Kazakova T.B., Bogovazova G.G., Alferova E.V., Usmanova S.S. Epidemiological and clinical efficacy of bacteriophage preparations in the treatment and prevention of infectious diseases. *Creating and perspectives of medical immunobiological preparations. Materials of Scientific conference. Perm. 2008: 91 – 94 (in Russian)*.
20. Voroshilova N.N., Kazakova T.B., Bogovazova G.G., Usmanova S.S., Alferova E.V. Comparative study of the clinical and antibacterial efficacy of bacteriophages and antibiotics in the treatment of enteric diseases caused by opportunistic bacteria. *Materials 12 of the International Slayano-Baltiysky forum «Sankt-St. Petersburg-Gastro-2010»*. Gastroenterology of St. Petersburg. 2010; 2 (3): 18, 19 (in Russian).
21. Pushkarev A.M., Voroshilova N.N., Korzhavin G.V. Etiotropic treatment of nosocomial infections in postoperative patients in urological hospital. *Materials III All-Russian scientific-practical conference «New Technologies in Surgery»*. Ufa. 1998: 258 (in Russian).
22. Lakhno V.M., Bordunovsky V.I. Application a fagotherapy in surgical practice. *Herald of surgery*. 2001; 160 (1): 122 – 125 (in Russian).
23. Bessmertnaya N.G., Chizhova G.V., Vladimirova N.Yu., Kogut E.P. et al. Efficiency of application a piobakteriofag for pregnant women with pyelonephritis. *Modern methods of diagnostics and treatment in obstetrics and gynecology. Collection of scientific works. Saratov. 1999: 35 – 36 (in Russian)*.
24. Zariychatsky M.F., Mugatarov I.N., Shvetsova Yu.A. The use preparations of bacteriophage for the treatment of inflammatory diseases of soft tissues. *Creating and perspectives of medical immunobiological drugs: materials of the All-Russian scientific and practical conference. Perm. Item, 2008: 104 – 106 (in Russian)*.
25. Zakharova Yu.A., Belokrylov N.M. Clinical case of treating a patient with osteomyelitis, caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* using the method of phage therapy. *Creating and perspectives of medical immunobiological drugs: Materials of the All-Russian scientific and practical conference. Perm: 2008: 96, 97 (in Russian)*.
26. Kisina V.I., Perepanova T.S., Zabiroy K.I., Bednova V.N., Vasil'ev M.M., Darbeeva O.S. et al. Phage therapy of inflammatory urogenital diseases at women. *Herald of dermatology and venereology*. 1996; 5: 45 – 48 (in Russian).
27. Verbeke G., Pirnay J.-P., Lavigne R., Jennes S., De Vos D., Casteels M., Huys I. Call for a dedicated european legal framework for bacteriophage therapy. *archivum immunologiae et therapiae experimentalis*. 2014; 62 (2): 117 – 129.
28. Bacteriophage and its vectors. In: *Molecular Cloning*, Eds. Sambrook J, Russell D. Cold spring harbour laboratory press. New York: 2001: 187 – 303.

Вакцинация детей с ревматическими заболеваниями¹

М.П. Костинов (vaccinums@gmail.com), А.А. Тарасова

ФГБУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» РАМН, Москва

Резюме

Освещены особенности вакцинации детей с ревматическими заболеваниями. Показано, каким образом схема иммунизации может быть изменена в зависимости от патологии и возраста ребенка.

Ключевые слова: иммунизация, дети с ревматическими заболеваниями

Vaccination of Children with Rheumatic Diseases

M.P. Kostinov (vaccinums@gmail.com), A.A. Tarasova

I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera of Russian Academy of Sciences, Moscow

Abstract

Recommendations highlighted features vaccination of children with rheumatic diseases. It is shown how the immunization scheme may be changed according to the pathology and the age of the child.

Key words: immunization, children with rheumatic diseases

Вакцинация пациентов с ревматическими заболеваниями с использованием конъюгированной пневмококковой вакцины

Вопрос о безопасности и иммуногенности конъюгированной вакцины у пациентов с ревматическими заболеваниями находится в стадии

изучения, исследования единичны. Так, в работе E. Farmaki et al. показаны безопасность и эффективность применения конъюгированной вакцины у детей с ювенильным идиопатическим артритом [93]. Две дозы 7-валентной вакцины получил 31 ребенок, средний возраст которых составил 12,9 ± 4,6 лет. Одна часть детей в момент вакцинации

¹Начало № 5 (84)