

**Национальная ассоциация специалистов по контролю инфекций,
связанных с оказанием медицинской помощи (НП «НАСКИ»)**

**Рациональное применение бактериофагов в лечебной и
противоэпидемической практике**

Федеральные клинические рекомендации

Апрель, 2014

УДК 616-036.22:614.2:576.858.9(07)

ББК 51.9я7

Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике. Федеральные клинические рекомендации. - Москва, 2014. – 39 с.

Авторский коллектив:

Асланов Б.И., Зуева Л.П., Кафтырева Л.А., Бойцов А.Г., Акимкин В.Г., Долгий А.А., Брусина Е.Б., Дроздова О.М.

Разработаны:

ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера»,

ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

ГБОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» СО РАМН

Экспертный совет: Брико Н.И. – академик РАМН, д.м.н., проф., зав.кафедрой эпидемиологии и доказательной медицины ГБОУ ВПО ПМГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, главный внештатный специалист эпидемиолог Минздрава России, председатель НП «НАСКИ» (Москва); Ковалишена О.В. - д.м.н., проф. кафедры эпидемиологии ГБОУ ВПО НижГМА Минздрава России, исполнительный директор НП «НАСКИ» (Нижний Новгород); Стасенко В.Л. - д.м.н., проф., зав.кафедрой эпидемиологии ГБОУ ВПО ОГМА Минздрава России, главный внештатный специалист эпидемиолог Минздрава Омской области (Омск); Фельдблюм И.В. – д.м.н., проф., зав.кафедрой эпидемиологии с курсом гигиены и эпидемиологии ФПК и ППС ГБОУ ВПО ПГМА им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России (Пермь); Шкарин В.В. – член-корр. РАМН, д.м.н., проф., президент и зав.кафедрой эпидемиологии ГБОУ ВПО НижГМА Минздрава России (Нижний Новгород).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Согласованы Профильной комиссией Минздрава России по эпидемиологии, протокол №3 от 21.04.2014

Утверждены на общем собрании членов некоммерческого партнерства «Национальная ассоциация специалистов по контролю инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи» (НП «НАСКИ») (протокол №5 от 21.04.2014) в период проведения Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Новые технологии специфической и неспецифической профилактики инфекций», г. Владивосток, 20-21 апреля 2014 г.

В федеральных клинических рекомендациях изложены основные принципы использования бактериофагов для борьбы с инфекционными заболеваниями, в том числе инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи. Предназначены для специалистов бактериологических лабораторий, эпидемиологов, врачей различных специальностей, работающих в амбулаторно-поликлинических учреждениях, хирургических, урологических, травматологических, гинекологических, ожоговых, терапевтических, педиатрических, инфекционных стационарах и отделениях реанимации и интенсивной терапии для взрослых и детей.

Содержание

Методология	5
Введение	8
Резистентность возбудителей инфекционных заболеваний к антибактериальным препаратам	8
Бактериофаги в эпоху антибиотикорезистентности	9
Бактериофаги как факторы эволюции бактерий	11
Работа с бактериофагами в лабораторных условиях	13
Принципы применения бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике	24
Литература	36

Методология

Настоящие методические рекомендации содержат

- рекомендуемые для применения в микробиологических лабораториях описание методов определения чувствительности микроорганизмов к бактериофагам, спектра литической активности бактериофагов, количества (титра) бактериофагов;
- принципы рационального применения бактериофагов для лечения и профилактики инфекционных заболеваний, в том числе инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в лечебно-профилактических учреждениях.

Методы, использованные для сбора/селекции доказательств:

поиск в электронных базах данных

Описание методов, использованных для сбора/селекции доказательств:

доказательной базой для рекомендаций являются публикации, вошедшие в Кокрайновскую библиотеку, базы данных EMBASE и MEDLINE. Глубина поиска составляла 5 лет.

Методы, использованные для оценки качества и силы доказательств:

- Консенсус экспертов;
- Оценка значимости в соответствии с рейтинговой схемой (схема прилагается).

Рейтинговая схема для оценки силы рекомендаций (Таблица 1):

Уровни доказательств	Описание
1++	Мета-анализы высокого качества, систематически обзоры рандомизированных контролируемых исследования (РКИ), или РКИ с очень низким риском систематических ошибок
1+	Качественно проведенные мета-анализы, систематические, или РКИ с низким риском систематических ошибок
1-	Мета-анализы, систематические, или РКИ с высоким риском систематических ошибок
2++	Высококачественные систематические обзоры исследований случай-контроль или когортных исследований. Высококачественные обзоры исследований случай-контроль или когортных исследований с очень низким риском эффектов смешивания или систематических ошибок и средней вероятностью причинной взаимосвязи
2+	Хорошо проведенные исследования случай-контроль или когортные исследования со средним риском эффектов смешивания или систематических ошибок и средней вероятностью причинной взаимосвязи
2-	Исследования случай-контроль или когортные исследования с высоким риском эффектов смешивания или систематических ошибок и средней вероятностью причинной взаимосвязи
3	Не аналитические исследования (например: описание случаев, серий случаев)
4	Мнение экспертов

Методы, использованные для анализа доказательств:

- Обзоры опубликованных мета-анализов;
- Систематические обзоры с таблицами доказательств.

Описание методов, использованных для анализа доказательств:

При отборе публикаций, как потенциальных источников доказательств, использованная в каждом исследовании методология изучалась для того, чтобы убедиться в ее валидности. Результат изучения влиял на уровень доказательств, присваиваемый публикации, что в свою очередь влияло на силу вытекающих из нее рекомендаций.

Методологическое изучение базировалось на нескольких ключевых вопросах, которые сфокусированы на тех особенностях дизайна исследования, которые оказывают существенное влияние на валидность результатов и выводов. Эти ключевые вопросы варьировали в зависимости от типов исследований и применяемых вопросников, используемых для стандартизации процесса оценки публикаций. Была использована методология NICE (National Institute for Health and Care Excellence).

Для исключения влияния на процесс оценки субъективного фактора каждое исследование оценивалось независимо по меньшей мере двумя независимыми членами рабочей группы. Какие-либо различия в оценках обсуждались группой в полной составе. Достижения консенсуса привлекался независимый эксперт.

Методы, использованные для формулирования рекомендаций:

консенсус экспертов.

Рейтинговая схема для оценки силы рекомендаций (таблица 2):

Сила	Описание
A	По меньшей мере один мета-анализ, систематический обзор, или РКИ, оцененные, как 1++, напрямую применимые к целевой популяции и демонстрирующие устойчивость результатов или группа доказательств, включающая результаты исследований, оцененные как 1+, напрямую применимые к целевой популяции и демонстрирующие общую устойчивость результатов
B	Группа доказательств, включающая результаты исследований, оцененные как 2++, напрямую применимые к целевой популяции и демонстрирующие общую устойчивость результатов или экстраполированные доказательства из исследований, оцененных как 1++ или 1+
C	Группа доказательств, включающая результаты исследований, оцененные, как 2+, напрямую применимые к целевой популяции и демонстрирующие общую устойчивость результатов; или экстраполированные доказательства из исследований. Оцененных как 2++
D	Доказательства уровня 3 или 4; или экстраполированные доказательства из исследований, оцененных как 2+

Индикаторы доброкачественной практики (Good Practice Points – GPP):

Рекомендуемая доброкачественная практики базируется на практическом опыте членов рабочей группы по разработке рекомендаций.

Экономический анализ:

Анализ стоимости не проводился и публикация по фармакоэкономике не анализировались.

Метод валидации рекомендаций:

- Внешняя экспертная оценка;
- Внутренняя экспертная оценка.

Описание метода валидации рекомендаций:

Настоящие рекомендации в предварительной версии были рецензированы независимыми экспертами, которых попросили прокомментировать прежде всего то, насколько интерпретация доказательств доступна для понимания и порядок действий выполним в практике.

Получены комментарии со стороны врачей и среднего медицинского персонала родильных домов в отношении доходчивости изложения рекомендаций и их оценки важности рекомендаций, как рабочего инструмента повседневной практики.

Комментарии, полученные от экспертов, тщательно систематизировались и обсуждались членами рабочей группы.

Консультации и экспертная оценка:

Настоящие рекомендации были представлены экспертам НАСКИ (Национальной ассоциации специалистов по контролю инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи), обсуждены и рекомендованы Профильной комиссией по эпидемиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации 21 апреля 2014 г., г. Владивосток.

Рабочая группа:

Для окончательной редакции и контроля качества рекомендации были повторно проанализированы членами рабочей группы, которые пришли к заключению, что все замечания и комментарии экспертов приняты во внимание, риск систематических ошибок при разработке рекомендаций сведен к минимуму, рекомендации не противоречат действующему санитарному законодательству.

Введение

Бактериальные инфекционные заболевания, в том числе инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП), представляют собой актуальную проблему современного здравоохранения. Национальная Концепция профилактики ИСМП ставит стратегической задачей здравоохранения обеспечение эпидемиологической безопасности организации лечебно-диагностического процесса, которая является неотъемлемым требованием оказания качественной медицинской помощи [1]. ИСМП поражают 5-10% пациентов в стационарах, и занимают десятое место в ряду причин смертности населения.

Спектр средств лечения и профилактики инфекционных заболеваний, в том числе ИСМП, постепенно уменьшается в связи с глобальным ростом устойчивости микроорганизмов к антибактериальным препаратам (АБП). В этой связи, одной из первостепенных задач является разработка и применение дополнительных средств борьбы с инфекционными заболеваниями, в качестве которых могут выступать бактериофаги.

Необходимо отметить, что применение бактериофагов, как и любых АБП, должно основываться на рациональных принципах. Умеренные бактериофаги играют существенную роль в эволюции бактерий, способствуя приобретению возбудителями дополнительных факторов вирулентности. В связи с этим, бактериофаги, применяемые для лечения инфекционных заболеваний, должны быть исключительно вирулентными.

Для обеспечения такого подхода литическая активность, назначаемых для лечения препаратов бактериофагов, должна быть предварительно проверена в бактериологической лаборатории.

Резистентность возбудителей инфекционных заболеваний к антибактериальным препаратам

В настоящее время во всем мире отмечается глобальная тенденция к росту устойчивости бактерий к АБП. Всемирная организация здравоохранения обращает внимание на то, что многие открытия в области медикаментозного лечения, сделанные в XX веке, могут потерять свою значимость из-за устойчивости к АБП. В результате этого большинство инфекционных болезней могут выйти из-под контроля [2].

В то время как используемые АБП быстро теряют свою эффективность, разработка новых препаратов идет крайне медленными темпами. При сохранении этой тенденции арсенал средств для борьбы с устойчивыми микроорганизмами может быть исчерпан.

Наряду с ростом устойчивости большинства возбудителей инфекционных заболеваний, угрожающие масштабы приобретает развитие антибиотикорезистентности и у возбудителей ИСМП. Устойчивость к АБП сформировалась у ведущих возбудителей ИСМП, таких как *Staphylococcus aureus* (MRSA - метициллин-резистентный *S. aureus*), *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae*, продуцирующие бета-лактамазы широкого и расширенного спектра, *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*, резистентные к карбапенемам, *Enterococcus faecium* и *Enterococcus faecalis* (VRE - ванкомицин-резистентные энтерококки), и ряд других микроорганизмов [2].

В связи с ростом антибиотикорезистентности, а также в условиях снижения темпов разработок новых АМП, ВОЗ и ведущие организации здравоохранения многих стран указывают на необходимость срочного решения проблемы лекарственной устойчивости, призывая всемерно поддерживать усилия по внедрению новых подходов для борьбы с инфекциями.

Бактериофаги в эпоху антибиотикорезистентности

В сложившихся условиях одним из эффективных компонентов борьбы с формирующейся антибиотикорезистентностью является разработка альтернативных АБП. В качестве таких препаратов могут выступать бактериофаги.

Бактериофаг (бактерии + греч. *phagos* - пожирающий; синоним: фаг, бактериальный вирус) - вирус, избирательно поражающий бактерии. Специфичность фагов лежит в основе их наименования по родовой или видовой принадлежности чувствительных к ним бактерий. Существует бактериофаг стафилококковый, стрептококковый, сальмонеллезный, синегнойный, протейный и др.

Бактериофаги широко распространены и являются природными ограничителями распространения бактерий. В этой связи абсолютно оправдан интерес к их применению в профилактике и лечении бактериальных инфекций, в том числе ИСМП.

История использования бактериофагов для лечения инфекционных заболеваний и их углубленного изучения начинается вскоре после их открытия независимо друг от друга Ф. Туортом в 1915г. и Ф. д'Эреллем в 1917г. В 20-40-х годах XX века велись интенсивные исследования по клиническому применению бактериофагов для лечения различных инфекционных заболеваний. Имеется множество данных об успешном применении фагов при дизентерии, брюшном тифе, паратифах, холере.

Наряду с решением проблем борьбы с широко распространенными бактериальными инфекциями, бактериофаги с успехом применялись и продолжают

применяться и для лечения ИСМП различной локализации, вызванных условно-патогенными микроорганизмами. Бактериофаги применялись местно, парентерально и перорально при лечении гнойных поражений мягких тканей и ожоговых ран, остеомиелитов, заболеваний дыхательных путей [3, 4, 5, 6].

Вскоре после открытия антибиотиков, которые на тот момент показались более эффективным и простым средством в лечении бактериальных инфекций, фаготерапия отступила на второй план. В настоящее время, учитывая глобальную тенденцию к росту антибиотикорезистентности, к фаготерапии вновь появляется повышенный интерес. Помимо России, имеющей самый богатый опыт применения лечебных и профилактических бактериофагов, изучением возможностей фаготерапии занимаются исследователи в Грузии, США, Англии, Польше и других странах [7, 8, 9, 10].

В настоящее время российская медицинская промышленность производит препараты бактериофагов для борьбы с инфекционными заболеваниями, вызванными патогенными и условно-патогенными возбудителями [11].

Производство препаратов фагов должно базироваться на ряде критериев [12]:

- препараты должны включать строго вирулентные бактериофаги;
- фаги, входящие в препарат, должны воспроизводиться в клетке-хозяине с высоким выходом активных частиц;
- фаги, входящие в препарат, должны сохранять литическую активность при длительном хранении;
- фаги, входящие в препарат, не должны взаимодействовать с представителями нормальной микрофлоры человека.

Бактериофаги по характеру взаимодействия с бактериальной клеткой делятся на вирулентные и умеренные. Взаимодействие вирулентного фага с бактериальной клеткой протекает в несколько этапов и обычно заканчивается лизисом (гибелью) последней и выходом из лизированной клетки новых зрелых фагов в окружающую среду. Успех фаготерапии напрямую зависит от эффективности применяемых препаратов. Одним из ключевых критериев успешной фаготерапии является использование вирулентных бактериофагов, обладающих полным лизисом бактерии – возбудителя инфекционного заболевания.

Умеренные фаги, в отличие от вирулентных, обычно не вызывают гибели бактериальных клеток и при взаимодействии с ней переходят в особую форму, называемую профагом. В отличие от генома вирулентного фага, функция которого определяет активную репродукцию, профаг воспроизводится как часть бактериальной

ДНК и синхронно с ней реплицируется. Бактериальные клетки, содержащие в своем геноме профаг, называются лизогенными. Одной из особенностей лизогенных бактерий является приобретенная ими устойчивость к последующему инфицированию аналогичным фагом. Лизогенизация бактерий лежит в основе фаговой или лизогенной конверсии, наблюдаемой у бактерий.

Благодаря данному феномену, бактериофаги играют важную роль в эволюции бактерий и приобретении ими новых свойств, например, способность продуцировать токсины, изменять морфологические или антигенные признаки и др.

Бактериофаги как факторы эволюции бактерий

Фаги способствуют формированию генетического разнообразия бактерий [13,14]. Исследования генетической структуры бактерий и бактериофагов выявили древние взаимосвязи между ними. Бактериофаги могут осуществлять генетический обмен между штаммами микроорганизмов путём лизогенной конверсии или трансдукции.

Феномен фаговой трансдукции (перенос бактериальной ДНК фагами между штаммами) описан у многих бактерий [14, 16].

Известна передача бактериофагами генов устойчивости к антибиотикам: бактериофаги *Proteus mirabilis* способны к передаче генов устойчивости к канамицину и ампициллину, фаги MRSA - генов устойчивости к пенициллину и тетрациклину, энтерококковые бактериофаги - генов устойчивости к тетрациклину и гентамицину [15, 17, 18].

В ходе лизогенной конверсии может происходить изменение свойств бактериальной клетки вследствие заражения ее умеренным бактериофагом. Лизогенизируя бактерию, умеренные фаги встраивают свой геном как профаг в бактериальную хромосому. Некоторые профаги передают гены, повышающие способность бактериальной клетки адаптироваться к условиям окружающей среды, играя тем самым важную роль в их эволюции. У многих бактерий профаги представляют значительную часть генома, приобретенную в ходе горизонтального генетического обмена [14].

Известна роль бактериофагов в формировании патогенных свойств возбудителей инфекционных заболеваний человека. В настоящее время известно, что множество факторов патогенности у бактерий закодировано профаговыми генами. У некоторых бактерий (*V. cholerae*, *C. diphtheriae* и *C. botulinum*) токсины, играющие

ведущую роль в патогенезе и вызывающие характерные симптомы инфекционного заболевания, обусловлены профагами [19].

Многие факторы патогенности штаммов *S. aureus*, *S. pyogenes*, *S. Typhimurium*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris* и *P. mirabilis* кодируются генами, расположенными в профагах. Каждый из этих факторов вносит вклад в способность к паразитизму в организме человека лизогенизированной бактерии [13, 14].

Помимо переноса генов вирулентности фаги способны также индуцировать точечные мутации в генах бактерий [13, 14].

Актуальность изучения генетической структуры микробов диктует необходимость углубленного изучения свойств различных профагов у бактерий – возбудителей ИСМП в стационарах. В исследованиях ряда авторов данных методических рекомендаций показана широкая распространенность у возбудителей ИСМП фагоопосредованных генов вирулентности [21-23]. Показано, что в стационарах в условиях взаимодействия возбудителей ИСМП и умеренных бактериофагов, несущих в себе гены вирулентности, могут сформироваться высоковирулентные клональные линии штаммов, обладающих множественной антибиотикорезистентностью, и способных к широкому эпидемическому распространению.

РАБОТА С БАКТЕРИОФАГАМИ В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

Перед назначением препарата бактериофага, для решения вопроса о чувствительности к нему возбудителя, необходимо проводить оценку литических свойств фага в лабораторных условиях.

В бактериологических лабораториях проводятся исследования по определению спектра литической активности вирулентных бактериофагов, количества бактериофагов в объектах окружающей среды как санитарно-показательных микроорганизмов, и реже – определение активности (титра) бактериофагов, используемых в качестве лекарственных препаратов, в отношении чувствительных к нему микроорганизмов.

В ходе научных исследований в лабораторных условиях могут быть использованы методы искусственной трансдукции и лизогенизации для подтверждения гипотез о влиянии умеренных бактериофагов на приобретение новых свойств штаммами, в том числе возбудителями ИСМП.

Определение чувствительности микроорганизмов к бактериофагам проводят при необходимости их использования в лечебных и/или профилактических целях.

Определение чувствительности неизвестной культуры к известному бактериофагу может быть использовано в практике работы лаборатории клинической микробиологии для:

- фагодифференцировки – идентификации бактерий по их чувствительности к известному фагу;
- фаготипирования – внутривидового типирования бактерий по их чувствительности к типовым бактериофагам;

По результатам исследования чувствительности микроорганизмов к бактериофагам выдают ответ о наличии или отсутствии чувствительности конкретного микроорганизма, выделенного из биоматериала конкретного пациента, к испытываемому бактериофагу с указанием его производителя, даты выпуска и номера серии.

Изучение спектра литического действия бактериофагов и их активности проводят в лабораторных условиях, соблюдая правила биологической безопасности и требования к организации и проведению данных работ для предотвращения контаминации бактериофагами помещений и оборудования лабораторий.

Литическая инертность вирулентных бактериофагов может быть связана с узким спектром литической активности самого бактериофага или с атипичными свойствами бактериальной культуры.

Требования к организации работы

Противоэпидемический режим работы лаборатории должен быть обеспечен в соответствии с:

- Санитарно-эпидемиологическими правилами «Безопасность работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» СП 1.3.2322-08;
- Санитарно-эпидемиологическими правилами СП 1.3.2518-09 – «Дополнения и изменения N 1 к санитарно-эпидемиологическим правилам «Безопасность работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» СП 1.3.2322-08;
- Санитарно-эпидемиологическими правилами и нормативами «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» СанПиН 2.1.7.2790-10;
- Руководством Р 3.5.1904-04 «Использование ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха в помещениях».

Требования к проведению работ

- Не допускается проведение работ, связанных с бактериофагами, в помещениях, где осуществляются культуральные работы по накоплению биомассы биологических агентов 3-4 групп патогенности и генно-инженерные работы, в том числе получение и выделение рекомбинантных генетических конструкций.
- Допуск персонала к работе с бактериофагами в лаборатории осуществляется в порядке, регламентированном действующими санитарными правилами проведения работ с микроорганизмами 3-4 групп патогенности.
- По окончании работы с бактериофагами и микроорганизмами 3-4 групп патогенности все объекты (рабочее место и другие рабочие поверхности) подвергают дезинфекции.
- Лаборатория, проводящая работу с бактериофагами, должна иметь контрольные (эталонные) штаммы микроорганизмов, на которых проверяют активность бактериофагов.

Методические приемы, используемые в микробиологических лабораториях при работе с бактериофагами

Методика определения чувствительности бактерий к бактериофагам (определение спектра литической активности бактериофагов)

Основные этапы проведения тестирования

Оценка чувствительности микроорганизмов к бактериофагам включает последовательное выполнение нескольких этапов лабораторной работы:

- Приготовление питательных сред;
- Приготовление суспензий исследуемых микроорганизмов;
- Посев микроорганизма на питательные среды и последующее нанесение бактериофагов;
- Инкубация;
- Учет и интерпретация результатов, формулировка заключения по чувствительности конкретного микроорганизма к действию конкретного бактериофага.

Питательные среды

Используются стандартные питательные среды. В зависимости от вида бактерии, выбирают питательные среды, на которых исследуемый микроорганизм через минимальное для данного вида время инкубации при оптимальной температуре дает хороший, видимый глазом рост. Питательная среда готовится из сухой среды промышленного производства в соответствии с инструкцией изготовителя. После автоклавирования питательную среду разливают в стерильные чашки Петри любого диаметра (60 – 90 - 100 мм и др.), в зависимости от объема исследования. Среда разливается в чашки слоем не более 4 мм. Чашки оставляют при комнатной температуре для застывания и подсушивания для того, чтобы хорошо впитывался фаголизат и испарился конденсат. Неиспользованные чашки с агаром хранят в условиях холодильника при +4 – +8°C. Допускается использование чашек с готовой питательной средой, расфасованных в чашки производителем.

Приготовление суспензии исследуемых микроорганизмов

Необходимым условием для любых методов тестирования микроорганизмов является стандартизация суспензии исследуемого микроорганизма. Для определения чувствительности бактерий к бактериофагам, желательнее, чтобы концентрация микроорганизмов в инокуляте составляла $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл, как и при определении чувствительности к АБП. Приготовление инокулята осуществляется в соответствии с МУК 4.12.1890-04. Бактериальную суспензию можно готовить как из бульонной, так и из агаровой культуры.

Посев бактериальной культуры на агаризованную питательную среду и нанесение бактериофага

На сухую поверхность питательной среды наносят бактериологической петлей или пипеткой бактериальную культуру. Культура может быть засеяна газоном на всю чашку или на сектор или в виде капли. В зависимости от объема исследования, на одну чашку Петри секторально могут быть засеяны несколько (но не более четырех) бактериальных культур.

Через несколько минут после подсыхания культуры на поверхность каждого сектора наносят капли исследуемого жидкого препарата бактериофага (при нанесении фага не следует касаться поверхности агара).

Для определения чувствительности бактерий к таблетированным формам бактериофага предварительно готовят жидкий образец из расчета 20 мл 0,9% стерильного раствора хлорида натрия на 1 таблетку. Образец выдерживают при температуре 37°C в течение 3 часов, периодически встряхивая, затем наносят капли на газон тестируемой культуры бактерии.

При необходимости определения чувствительности к нескольким фагам капли должны располагаться на расстоянии, исключающем их слияние.

Для нанесения фагов удобно использовать пастеровские пипетки, шприцы с иглами, капельницы. Не следует закрывать и переворачивать чашки, пока капли фага не впитаются в агар.

При определении чувствительности энтеробактерий одновременно к нескольким фагам, во избежание слияния зон лизиса, рекомендуется осуществлять посев тестируемой культуры в виде отдельных, не смыкающихся между собой штрихов по числу тестируемых фагов. Капля каждого фага наносится в середину отдельного штриха.

При необходимости определения чувствительности стафилококков к одному бактериофагу, допускается нанесение капли фага на чашку, используемую для определения чувствительности к антибактериальным препаратам в соответствии с МУК 4.12.1890-04, уменьшив число накладываемых дисков до 5.

Инкубация

После высыхания капель нанесенных бактериофагов чашки переворачивают агаром вверх (крышкой вниз) и инкубируют в термостате при 37°C или другой температуре, оптимальной для роста микроорганизма.

Учет и интерпретация результатов, формулировка заключения по чувствительности микроорганизма к действию конкретного бактериофага

Первый учет результатов можно произвести уже после 6-7 часов инкубации. В экстренных случаях это позволяет сообщать о результатах чувствительности в день постановки опыта. Вторую и окончательную оценку полученных результатов проводят через 18-24 часа. Посевы просматривают и отмечают в случае высокой чувствительности микроорганизма к бактериофагу появление на месте капли фага «стерильного пятна» (другие названия: негативные колонии или четко выраженные бляшки). Как только бактериальные клетки достигают стационарной фазы, бляшки перестают увеличиваться. «Негативные колонии» могут иметь характерную для определенного фага форму (круглую, звездчатую, с четким краем, с мутной зоной по периферии и т.д.), по которой можно дифференцировать различные фаги.

Реакции лизиса (полное подавление видимого роста) учитывают невооруженным глазом при прямом освещении или под углом в 45°. Результаты лучше оценивать при дневном свете. Сомнительные или отрицательные проявления взаимодействия бактерии и фага контролируют, пользуясь ручной лупой.

При низкой активности бактериофагов или наличия феномена лизогенности изучаемого микроорганизма могут наблюдаться и другие результаты взаимодействия бактериофага с изучаемым микроорганизмом: полусливной лизис, отдельные негативные колонии и полное отсутствие лизиса.

В зависимости от полученных результатов в заключении указывается степень чувствительности конкретного микроорганизма к действию конкретного бактериофага:

1. Исследуемый микроорганизм чувствителен к бактериофагу (название бактериофага, производитель, серия, дата выпуска/или срок годности) – в месте нанесения фага наблюдается сплошная негативная колония;

2. Исследуемый микроорганизм слабо чувствителен к бактериофагу (название бактериофага, производитель, серия, дата выпуска/или срок годности) - в месте нанесения фага наблюдаются отдельные негативные колонии фагов или рост отдельных колоний бактерий на фоне негативной колонии фага;
3. Исследуемый микроорганизм не чувствителен к бактериофагу (название бактериофага, производитель, серия, дата выпуска/или срок годности) – полное отсутствие следов лизиса.

Распространенной практикой является оценка литической активности фага по пятибалльной шкале (по количеству «крестов»):

«-» отсутствие литической активности;

«+» низкая активность;

«++» образование зоны лизиса с большим количеством колоний вторичного роста бактерии;

«+++» зона лизиса с единичными колониями вторичного роста;

«++++» прозрачная зона лизиса без колоний вторичного роста.

Как было отмечено, крайне важным является использование исключительно вирулентного (высокоактивного) препарата. В этой связи, решение вопроса о применении фага для лечения бактериальной инфекции должно базироваться на результатах тестирования активности препарата в лаборатории. При назначении бактериофага допускается использование препарата, обладающего литической активностью не менее «++++».

Контроль качества определения чувствительности

При определении чувствительности микроорганизмов к бактериофагам рекомендуется включать в исследование процедуры внутреннего контроля качества.

Достоверность результатов исследования подтверждается следующими контролями:

- Контроль активности бактериофага (при определении чувствительности микроорганизмов к бактериофагам параллельно проверяется активность бактериофага на чувствительном к нему контрольном штамме из лабораторного музея контрольных штаммов). На поверхности роста микроорганизма и капли фага отмечается «сливной лизис» («негативная колония» фага или «стерильное пятно») в виде капли, хорошо видимый глазом.
- Контроль чистоты роста тестируемого штамма микроорганизма. При подозрении на смешанный рост микроорганизмов результаты оценки

чувствительности к бактериофагам не учитываются. Исследование следует повторить после получения чистой культуры микроорганизма.

- Контроль на лизогенность штаммов микроорганизмов – иногда требуется контроль наличия в штаммах микроорганизма умеренных бактериофагов.

Описание проведения такого контроля выходит за рамки данного документа.

Методы определения концентрации фагов в фаголизате

Спектр возможностей лабораторий при работе с бактериофагами не ограничивается только описанным выше способом определения чувствительности бактерий к фаговым препаратам. В целях соблюдения принципа использования в лечебной практике исключительно вирулентных препаратов, в лабораторных условиях также возможно определение титра фага, характеризующего его литическую активность.

Титрование бактериофага – это определение активности бактериофага по способности различных разведений его взвеси лизировать бактериальные культуры в жидких питательных средах или образовывать негативные колонии в бактериальном газоне на плотных питательных средах.

Для выражения активности бактериофага можно пользоваться двумя показателями: количеством активных частиц бактериофага, содержащихся в 1 мл исследуемой жидкости (**индекс фага**), или величиной наибольшего разведения исследуемой жидкости, при котором бактериофаг проявляет свое литическое действие (**титр фага**).

Для титрования бактериофага в лабораторных условиях предложены различные методы, однако наибольшее распространение получили способ титрования фага в жидкой питательной среде, предложенный Аппельманом и метод агаровых слоев по Грациа:

Метод Аппельмана - определение предельного разведения взвеси бактериофага, способное вызвать лизис живых культур микроорганизмов, чувствительных к бактериофагу бактерий, в жидкой питательной среде.

Метод агаровых слоев по Грациа – определение количества негативных колоний (стерильных пятен, бляшкообразующих единиц (БОЕ)), образовавшихся на агаровой питательной среде, из определенного объема (обычно 1,0 мл) взвеси бактериофага (фаголизата) при его культивировании совместно с живыми чувствительными к бактериофагам бактериями.

Титрование бактериофага в жидкой питательной среде по методу Аппельмана

Метод основан на внесении различных количеств титруемого бактериофага в бульон, засеянный одной и той же дозой микроорганизма, чувствительного к исследуемому бактериофагу, с целью получения феномена лизиса бактерий.

Титрованием фага по методу Аппельмана можно определить концентрацию бактериофага в единице объема с точностью до порядка.

Для этого готовят стерильный питательный бульон, который разливают по 4,5 мл в 12 стерильных бактериологических пробирок и ставят их в штатив в один ряд. В 1-ю пробирку стерильной пипеткой вносят 0,5 мл исследуемого фага. Содержимое пробирки перемешивают и 0,5 мл из 1-й пробирки переносят во 2-ю, хорошо перемешивают и из 2-й пробирки переносят в 3-ю и т.д. до 10-й включительно. Из 10-й пробирки 0,5 мл удаляют. 11-я и 12-я пробирки являются контрольными. Переносят жидкость из одной пробирки в другую каждый раз отдельной стерильной пипеткой. Таким образом, в 10 пробирках получают разведения бактериофага от 10^{-1} до 10^{-10} . Полученную величину выражают отрицательным логарифмом 10 , где степень указывает разведение фага, т.е. до 10^{-10} степени. Во все 10 пробирок приготовленного ряда разведений вносят по 0,2 мл 18 - 24-часовой бульонной культуры бактерий, чувствительных к титруемому бактериофагу.

Штатив с пробирками инкубируют в термостате при 37°C 18—20 ч.

Густота микробной взвеси, прибавляемой в пробирки с титруемым бактериофагом, существенного значения не имеет, так как в специальной серии опытов было установлено, что микробная концентрация в пределах 100 000 — 4 500 000 в 1,0 мл. не оказывает заметного влияния на результат титрования бактериофага.

Пробирка №11 — контроль роста микроорганизма. Она содержит 4,5 мл бульона и 0,2 мл бульонной культуры чувствительного микроорганизма.

Пробирка №12 - контроль стерильности питательного бульона. Она содержит 4,5 мл бульона без добавления бактериальной культуры и бактериофага.

Учет результатов производят через 18—20 ч инкубации в термостате при 37°C . Титром считают максимальное разведение бактериофага, при котором наблюдался полный лизис чувствительной к фагу культуры. Практически это соответствует последней пробирке в ряду (от 1 до 10), в которой бульон после инкубации остается прозрачным, как в пробирке №12. Количество разведений зависит от предполагаемой концентрации фаговых частиц в исследуемой суспензии. При высокой концентрации бактериофагов и отсутствии разведения с полным лизисом чувствительной к фагу бактериальной культуры, титрование фаголизата должно быть продолжено.

Метод имеет принципиальное ограничение: чувствительная к бактериофагу культура микроорганизма должна быть стабильна по данному признаку и не должна содержать устойчивых к фагу клеток, что на практике не поддается контролю.

Титрование бактериофага на плотной питательной среде по методу агаровых слоев по Грациа

Более точным методом определения числа фагов в единице объема является подсчет количества образуемых ими стерильных пятен (негативных колоний или БОЕ). Метод агаровых слоев по Грациа основан на внесении различных разведений титруемого бактериофага в чувствительную бактериальную культуру и посева смеси на плотную питательную среду с целью получения негативных колоний бактериофага. Титрованием фага по методу Грациа можно определить концентрацию бактериофага в единице объема с точностью до одной фаговой корпускулы.

Для этого готовят 1,5% питательный агар и разливают в стандартные чашки Петри в количестве 25,0-30,0 мл. Агар подсушивают 30 мин в термостате или 2 - 3 ч. при комнатной температуре. Подготовленный агар должен быть без конденсата (с ровной сухой поверхностью), так как незначительное увлажнение может изменить количественные показатели содержания корпускул фага в исследуемой субстрате.

Отдельно готовят 0,7% питательный агар (полужидкий), разливают его в пробирки по 2,5 мл и стерилизуют обычным способом.

Для опыта требуется экспоненциально растущая бактериальная культура чувствительного к бактериофагу микроорганизма.

Далее готовят ряд последовательных десятикратных разведений (так же, как при титровании фага на жидких средах по методу Аппельмана) бактериофага. Для разведений фагов можно пользоваться стерильным бульоном или стерильным изотоническим раствором хлорида натрия.

Количество чашек Петри с агаром, пробирок с 0,7% агаром должно соответствовать числу пробирок с разведением фага.

Ход исследования: в пробирки с 0,7% питательным агаром, расплавленным на водяной бане и остуженным до температуры 45°C, добавляют по 1 мл каждого разведения титруемого фага и 0,2 мл бульонной экспоненциально растущей бактериальной культуры, чувствительной к фагу. Содержимое пробирок перемешивают, вращая пробирки между ладонями, и выливают вторым слоем в чашки Петри с 1,5% агаром. После застывания среды чашки с посевом инкубируют при 37°C на 18-24 часа.

Учитывают результаты, проводя подсчет отдельных образовавшихся негативных колоний фагов (стерильных пятен), засеянных наиболее высокими разведениями. Полученную величину умножают на степень соответствующего разведения (выражают отрицательным логарифмом 10, где степень указывает разведение фага).

Другие возможные сферы применения бактериофагов в лаборатории клинической микробиологии

Фагодифференцировка – идентификация бактерий по их чувствительности к известному фагу. Для фагодифференцировки могут быть использованы лечебные монофаги или специальные диагностические препараты. При оценке результатов следует учитывать, что если лизируемость культуры известным фагом с высокой степенью достоверности свидетельствует о её принадлежности к искомому виду, то отрицательный результат не исключает её принадлежности к нему, так как 100% фаголизирующихся штаммов определенного вида бактерий практически не существует.

В лабораториях клинической микробиологии, имеющих разрешение на работу с микроорганизмами 3-4 групп патогенности, возможно проведение **фаготипирования** *S.aureus* с помощью Международного набора типовых диагностических бактериофагов, который используется согласно прилагаемой инструкции.

Устойчивость бактериофагов к факторам окружающей среды

По степени устойчивости к действию различных факторов внешней среды и химических веществ фаги занимают место между вирусами и неспорообразующими бактериями. Большинство фагов инактивируется при температуре не ниже 65-70°C. Они хорошо переносят замораживание и длительное хранение при низких температурах, а также высушивание. Фаги обладают высокой чувствительностью к кислотам (устойчивы в пределах pH от 5,0 до 8,0). Большинство из них не инактивируются холодными водными растворами глицерина и этилового спирта. На них не действуют такие ферментные яды, как цианид, фторид, динитрофенол, а также хлороформ и фенол. Ультрафиолетовые лучи и ионизирующая радиация вызывают их инактивацию, а в более низких дозах – мутации.

Хранение фагов

Бактериофаги желательно хранить в условиях холодильника при +4°-8°С. При длительном хранении препарата концентрация фага (титр фага) может существенно снижаться. Фаги хорошо сохраняются в запаянных ампулах и в лиофилизированном состоянии, но они легко разрушаются при кипячении, действии кислот, химических дезинфектантов, при УФ-облучении.

ПРИНЦИПЫ РАЦИОНАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ БАКТЕРИОФАГОВ В ЛЕЧЕБНОЙ И ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Распространенными формами препаратов бактериофагов, выпускаемых российскими производителями иммунобиологической продукции, являются жидкие лекарственные формы и таблетированные препараты с кислотоустойчивой оболочкой.

Бактериофаги выпускаются как в виде монопрепаратов (лизирующие стафилококки, сальмонеллы, стрептококки, эшерихии, клебсиеллы, протей, псевдомонады и шигеллы), так и в виде комбинированных препаратов (пиобактериофаг, интести-бактериофаг, колипротейный бактериофаг).

Препараты бактериофагов обладают рядом достоинств:

- высокоэффективные биологические препараты антибактериального действия для профилактики и лечения инфекционных заболеваний, в том числе ИСМП;
- высокая специфичность, позволяющая элиминировать возбудителя инфекции без воздействия на другие микроорганизмы;
- при применении не нарушают нормальные биоценозы человека;
- незаменимы в случае устойчивости возбудителей инфекций, в том числе ИСМП, к АБП;
- являются самовоспроизводящимися организмами: лизис бактерии сопровождается высвобождением большого количества новых фаговых частиц, поражающих бактерии в очаге инфекции до их полной элиминации;
- могут применяться в комплексной терапии с другими лекарственными средствами;
- могут применяться при лечении дисбактериозов в комплексе с препаратами, нормализующими микробиоту кишечника;
- безопасны в педиатрической практике;
- высокостабильны и могут храниться в течение достаточно длительного периода времени.

Решение вопроса о применении препарата фага для лечения ИСМП у пациента должно приниматься лечащим врачом после получения результата исследования из лаборатории с указанием возбудителя и данных о его чувствительности к бактериофагу. *Бактериофаг допустим к применению только при его высокой*

литической активности, гарантирующей полный лизис возбудителя в очаге инфекции.

Фаготерапию можно применять как самостоятельный метод лечения, так и в сочетании с другими АБП.

Спектр бактериальных инфекций, для лечения которых могут с успехом применяться бактериофаги, достаточно широк. Бактериофаги можно использовать для лечения пациентов с ИСМП различной локализации – в области хирургического вмешательства, мочевыводящих путей (в т.ч. урогенитальных инфекций), нижних дыхательных путей, ЛОР-органов и других органов и систем, а также инфекций у новорожденных и беременных.

Бактериофаги следует применять согласно инструкциям, приложенным к препаратам. Дозы и способ введения зависят от характера очага инфекции. Согласно инструкциям производителей, бактериофаги в зависимости от очага инфекции могут применяться перорально, местно в виде орошения, примочек и тампонирования, введения в полости, в мочевой пузырь через катетер, ректально и другими способами. При рецидивирующем течении заболевания возможно проведение повторных курсов лечения после обязательной предварительной оценки чувствительности возбудителя к применяемому бактериофагу.

При местном применении бактериофаги используют в виде орошения, примочек и тампонирования жидким фагом. Количество бактериофага зависит от размеров пораженного участка.

При ЛОР-инфекциях бактериофаг используют в виде полоскания, промывания, закапывания, введения пропитанных фагом турунд, оставляя их на 1 час.

При абсцессах бактериофаг вводят в полость очага после удаления гноя. Количество вводимого препарата должно быть несколько меньше объема удаленного гноя.

При комплексном лечении хронических остеомиелитов бактериофаг вводят в рану непосредственно после ее хирургической обработки.

Лечение циститов с помощью бактериофага проводят введением препарата в полость мочевого пузыря через катетер.

По данным различных исследований при пероральном применении бактериофаги могут обнаруживаться в крови и моче [20]. В этой связи производители препаратов фагов рекомендуют проводить лечение инфекций с локализованными поражениями одновременно как местно, так и перорально. Согласно инструкциям производителей, бактериофаг перорально применяют для лечения урогенитальной

инфекционной патологии (цистита, пиелита, пиелонефрита, эндометрита, сальпингоофорита), кишечных и других инфекций.

При кишечных инфекциях и дисбактериозе кишечника жидкий бактериофаг применяют: внутрь натощак за 1,5-2 часа до приема пищи; ректально в виде клизм. Возможно сочетание ректального (в клизмах) и перорального применения препарата.

К настоящему времени в зарубежной и отечественной медицинской и научной практике накоплен значительный опыт успешного использования фагов для терапии бактериальных инфекций [3-10, 12, 20, 24-45]. Использование бактериофагов при соблюдении предложенных принципов позволяет добиться значительного терапевтического результата.

Источником инфекции в различных стационарах являются пациенты, страдающие ИСМП. В этой связи, терапевтический эффект фаготерапии этих пациентов сопровождается высокой противоэпидемической эффективностью. Это выражается в резком снижении интенсивности эпидемического процесса ИСМП, вплоть до полной элиминации возбудителя из отделения, что особенно заметно при использовании бактериофагов в условиях вспышек.

Отечественная иммунобиологическая промышленность выпускает ряд монопрепаратов бактериофагов, специфичных против конкретного возбудителя. В табл. 3-10 представлены монофаги с описанием их основных характеристик.

Таблица 3

Бактериофаг стафилококковый

Название препарата	Бактериофаг стафилококковый
Фармакотерапевтическая группа	МИБП – бактериофаг Код АТХ V03A
Регистрационный номер	Р №001973/01
Форма выпуска	Раствор для приема внутрь, местного и наружного применения во флаконах по 20 мл или 100 мл
Описание лекарственной формы	Прозрачная жидкость желтого цвета различной интенсивности
Специфическая направленность	Препарат вызывает специфический лизис бактерий <i>Staphylococcus spp.</i>
Показания	Лечение и профилактика инфекций, вызванных бактериями <i>Staphylococcus spp.</i> у взрослых и детей: <ul style="list-style-type: none"> - инфекции ЛОР-органов; - хирургические инфекции в т.ч. инфекции в области хирургического вмешательства; - инфекции мочеполовых органов; - кишечные инфекции, дисбактериоз кишечника; - гнойно-воспалительные заболевания новорожденных; - инфекции кожи, вызванные <i>Staphylococcus</i>

	spp. - - другие заболевания, вызванные Staphylococcus spp.
Применение, схемы и режим дозирования	Согласно инструкции производителя
Необходимое условие эффективной фаготерапии	Применение препарата с литической активностью +++++, предварительно подтвержденной в лабораторных условиях
Степень доказательной обоснованности рекомендаций по применению препарата ¹	C, D

Таблица 4

Бактериофаг стрептококковый

Название препарата	Бактериофаг стрептококковый
Фармакотерапевтическая группа	МИБП – бактериофаг Код АТХ V03A
Регистрационный номер	Р №001974/01
Форма выпуска	Раствор для приема внутрь, местного и наружного применения во флаконах по 20 мл или 100 мл
Описание лекарственной формы	Прозрачная жидкость желтого цвета различной интенсивности
Специфическая направленность	Препарат вызывает специфический лизис бактерий Streptococcus spp.
Показания	Лечение и профилактика инфекций, вызванных бактериями Streptococcus spp. у взрослых и детей: <ul style="list-style-type: none"> - инфекции ЛОР-органов; - хирургические инфекции в т.ч. инфекции в области хирургического вмешательства; - инфекции мочеполовых органов; - кишечные инфекции, дисбактериоз кишечника; - гнойно-воспалительные заболевания новорожденных; - инфекции кожи, вызванные Streptococcus spp.; - другие заболевания, вызванные Streptococcus spp.
Применение, схемы и режим дозирования	Согласно инструкции производителя
Необходимое условие эффективной фаготерапии	Применение препарата с литической активностью +++++, предварительно подтвержденной в лабораторных условиях
Степень доказательной обоснованности рекомендаций по применению препарата	C, D

Бактериофаг синегнойный

Название препарата	Бактериофаг псевдомонас аеругиноза (синегнойный)
Фармакотерапевтическая группа	МИБП – бактериофаг Код АТХ V03A
Регистрационный номер	Р №001976/01
Форма выпуска	Раствор для приема внутрь, местного и наружного применения во флаконах по 20 мл или 100 мл
Описание лекарственной формы	Прозрачная жидкость желтого цвета различной интенсивности
Специфическая направленность	Препарат вызывает специфический лизис бактерий <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Показания	Лечение и профилактика инфекций, вызванных бактериями <i>P. aeruginosa</i> у взрослых и детей: <ul style="list-style-type: none"> - инфекции ЛОР-органов; - хирургические инфекции в т.ч. инфекции в области хирургического вмешательства; - инфекции мочеполовых органов; - кишечные инфекции, дисбактериоз кишечника; - гнойно-воспалительные заболевания новорожденных; - инфекции кожи, вызванные <i>P. aeruginosa</i>; - другие заболевания, вызванные <i>P. Aeruginosa</i>
Применение, схемы и режим дозирования	Согласно инструкции производителя
Необходимое условие эффективной фаготерапии	Применение препарата с литической активностью +++++, предварительно подтвержденной в лабораторных условиях
Степень доказательной обоснованности рекомендаций по применению препарата	C, D

Бактериофаг коли

Название препарата	Бактериофаг Коли
Фармакотерапевтическая группа	МИБП – бактериофаг Код АТХ V03A
Регистрационный номер	Р №001977/01
Форма выпуска	Раствор для приема внутрь, местного и наружного применения во флаконах по 20 мл или 100 мл
Описание лекарственной формы	Прозрачная жидкость желтого цвета различной интенсивности
Специфическая направленность	Препарат вызывает специфический лизис бактерий энтеропатогенной <i>E. coli</i>
Показания	Лечение и профилактика гнойно-воспалительных и кишечных заболеваний, дисбактериозов, вызванных

	<p>E.coli в составе комплексной терапии у взрослых и детей:</p> <ul style="list-style-type: none"> - кишечные инфекции, дисбактериоз кишечника; - инфекции мочеполовых органов; - хирургические инфекции в т.ч. инфекции в области хирургического вмешательства; - гнойно-воспалительные заболевания новорожденных; - другие заболевания, вызванные E. Coli
Применение, схемы и режим дозирования	Согласно инструкции производителя
Необходимое условие эффективной фаготерапии	Применение препарата с литической активностью +++++, предварительно подтвержденной в лабораторных условиях
Степень доказательной обоснованности рекомендаций по применению препарата	C, D

Таблица 7

Бактериофаг клебсиелл пневмонии очищенный

Название препарата	Бактериофаг клебсиелл пневмонии очищенный
Фармакотерапевтическая группа	МИБП – бактериофаг Код АТХ V03A
Регистрационный номер	ЛС- 001297
Форма выпуска	Раствор для приема внутрь, местного и наружного применения во флаконах по 20 мл
Описание лекарственной формы	Прозрачная жидкость желтого цвета различной интенсивности, допускается зеленоватый оттенок
Специфическая направленность	Препарат вызывает специфический лизис бактерий <i>Klebsiella pneumoniae</i>
Показания	<p>Лечение и профилактика инфекций, вызванных <i>K. pneumoniae</i> у взрослых и детей:</p> <ul style="list-style-type: none"> - заболевания желудочно-кишечного тракта, дисбактериоз кишечника; - воспалительные заболевания новорожденных и детей раннего возраста; - хирургические инфекции в т.ч. инфекции в области хирургического вмешательства; - инфекции ЛОР-органов; - инфекции мочеполовых органов; - другие заболевания, вызванные <i>K. pneumoniae</i>
Применение, схемы и режим дозирования	Согласно инструкции производителя
Необходимое условие эффективной фаготерапии	Применение препарата с литической активностью +++++, предварительно подтвержденной в лабораторных условиях
Степень доказательной обоснованности	C, D

рекомендаций по применению препарата	
--------------------------------------	--

Таблица 8

Бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный

Название препарата	Бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный
Фармакотерапевтическая группа	МИБП – бактериофаг Код АТХ V03A
Регистрационный номер	ЛС- 001361
Форма выпуска	Раствор для приема внутрь, местного и наружного применения во флаконах по 20 мл
Описание лекарственной формы	Прозрачная жидкость желтого цвета различной интенсивности, допускается зеленоватый оттенок
Специфическая направленность	Препарат вызывает специфический лизис бактерий <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Klebsiella ozaenae</i> , <i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>
Показания	Лечение и профилактика инфекций, вызванных <i>K. pneumoniae</i> , <i>K. ozaenae</i> , <i>K. rhinoscleromatis</i> у взрослых и детей: <ul style="list-style-type: none"> - озена, склерома; - заболевания желудочно-кишечного тракта, дисбактериоз кишечника; - воспалительные заболевания новорожденных и детей раннего возраста; - хирургические инфекции в т.ч. инфекции в области хирургического вмешательства; - инфекции мочеполовых органов; - инфекции ЛОР-органов; - другие заболевания, вызванные <i>K. pneumoniae</i>, <i>K. ozaenae</i>, <i>K. rhinoscleromatis</i>
Применение, схемы и режим дозирования	Согласно инструкции производителя
Необходимое условие эффективной фаготерапии	Применение препарата с литической активностью +++++, предварительно подтвержденной в лабораторных условиях
Степень доказательной обоснованности рекомендаций по применению препарата	C, D

Таблица 9

Бактериофаг дизентерийный поливалентный

Название препарата	Бактериофаг дизентерийный поливалентный
Фармакотерапевтическая группа	МИБП – бактериофаг Код АТХ V03A
Регистрационный номер	Р №002560/01
Форма выпуска	Таблетки для приема внутрь
Описание лекарственной	Таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой

формы	
Специфическая направленность	Препарат вызывает специфический лизис бактерий <i>Shigella flexeneri</i> I-IV и VI типов и <i>Shigella sonnei</i>
Показания	Лечение и профилактика бактериальной дизентерии, вызванной <i>S. flexeneri</i> I-IV и VI типов и <i>S. sonnei</i> , у взрослых и детей с одного года
Применение, схемы и режим дозирования	Согласно инструкции производителя
Необходимое условие эффективной фаготерапии	Применение препарата с литической активностью +++++, предварительно подтвержденной в лабораторных условиях
Степень доказательной обоснованности рекомендаций по применению препарата	C, D

Таблица 10

Бактериофаг сальмонеллезный групп А,В,С,Д,Е

Название препарата	Бактериофаг сальмонеллезный групп А,В,С,Д,Е
Фармакотерапевтическая группа	МИБП – бактериофаг Код АТХ V03A
Регистрационный номер	ЛС – 000624, ЛС- 002206
Форма выпуска	Раствор для приема внутрь и местного применения во флаконах по 100 мл. Таблетки для приема внутрь
Описание лекарственной формы	Прозрачная жидкость желтого цвета различной интенсивности, допускается зеленоватый оттенок. Таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой
Специфическая направленность	Препарат вызывает специфический лизис сальмонелл гр. А - <i>Salmonella Paratyphi A</i> ; гр. В - <i>S. Paratyphi B</i> , <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Heidelberg</i> ; гр. С - <i>S. Newport</i> , <i>S. Choleraesuis</i> , <i>S. Oranienburg</i> , <i>S. Infantis</i> ; гр. Д - <i>S. Dublin</i> , <i>S. Enteritidis</i> ; гр. Е - <i>S. Anatum</i> , <i>S. Newlands</i>
Показания	Лечение и профилактика инфекций, вызванных сальмонеллами указанных серогрупп и серотипов
Применение, схемы и режим дозирования	Согласно инструкции производителя
Необходимое условие эффективной фаготерапии	Применение препарата с литической активностью +++++, предварительно подтвержденной в лабораторных условиях
Степень доказательной обоснованности рекомендаций по применению препарата	C, D

В табл. 11-15 представлены комбинированные препараты бактериофагов.

Таблица 11

Интести-бактериофаг

Название препарата	Интести-бактериофаг
Фармакотерапевтическая группа	МИБП – бактериофаг

группа	Код АТХ V03A
Регистрационный номер	ЛС – 001999
Форма выпуска	Раствор для приема внутрь и ректального введения во флаконах по 20 мл или 100 мл
Описание лекарственной формы	Прозрачная жидкость желтого цвета различной интенсивности, допускается зеленоватый оттенок
Специфическая направленность	Препарат вызывает специфический лизис бактерий <i>S. flexneri</i> 1, 2, 3, 4, 6 сероваров; <i>S. sonnei</i> ; <i>S. Paratyphi A</i> ; <i>S. Paratyphi B</i> ; <i>S. Typhimurium</i> ; <i>S. Infantis</i> ; <i>S. Choleraesuis</i> ; <i>S. Oranienburg</i> ; <i>S. Enteritidis</i> ; <i>E. coli</i> различных серогрупп, наиболее значимых в этиологии кишечных заболеваний; <i>P. vulgaris</i> , <i>P. mirabilis</i> ; <i>Enterococcus spp.</i> ; <i>Staphylococcus spp.</i> ; <i>P. aeruginosa</i>
Показания	Лечение и профилактика инфекций желудочно-кишечного тракта, вызванных указанными возбудителями или их сочетанием
Применение, схемы и режим дозирования	Согласно инструкции производителя
Необходимое условие эффективной фаготерапии	Применение препарата с литической активностью +++++, предварительно подтвержденной в лабораторных условиях
Степень доказательной обоснованности рекомендаций по применению препарата	C, D

Таблица 12

Бактериофаг колипротейный

Название препарата	Бактериофаг колипротейный
Фармакотерапевтическая группа	МИБП – бактериофаг Код АТХ V03A
Регистрационный номер	ЛС- 001998
Форма выпуска	Раствор для приема внутрь, местного и наружного применения во флаконах по 20 мл
Описание лекарственной формы	Прозрачная жидкость желтого цвета различной интенсивности, допускается зеленоватый оттенок
Специфическая направленность	Препарат вызывает специфический лизис бактерий <i>P. vulgaris</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>E. coli</i>
Показания	Лечение и профилактика инфекций, вызванных бактериями <i>P. vulgaris</i> , <i>P. mirabilis</i> и <i>E. coli</i> у взрослых и детей: <ul style="list-style-type: none"> - кишечные инфекции, дисбактериоз кишечника; - инфекции ЛОР-органов; - хирургические инфекции в т.ч. инфекции в области хирургического вмешательства; - инфекции мочеполовых органов; - гнойно-воспалительные заболевания новорожденных; - другие заболевания, вызванные указанными возбудителями

Применение, схемы и режим дозирования	Согласно инструкции производителя
Необходимое условие эффективной фаготерапии	Применение препарата с литической активностью +++++, предварительно подтвержденной в лабораторных условиях
Степень доказательной обоснованности рекомендаций по применению препарата	C, D

Таблица 13

Пиобактериофаг поливалентный очищенный

Название препарата	Пиобактериофаг поливалентный очищенный
Фармакотерапевтическая группа	МИБП – бактериофаг Код АТХ V03A
Регистрационный номер	ЛС – 002031
Форма выпуска	Раствор для приема внутрь, местного и наружного применения во флаконах по 20 мл
Описание лекарственной формы	Прозрачная жидкость желтого цвета различной интенсивности, допускается зеленоватый оттенок
Специфическая направленность	Препарат вызывает специфический лизис бактерий <i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Streptococcus spp.</i> , <i>Proteus spp.</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i>
Показания	Лечение и профилактика гнойно-воспалительных и кишечных инфекций, вызванных указанными возбудителями: <ul style="list-style-type: none"> - кишечные инфекции, дисбактериоз кишечника; - инфекции ЛОР-органов; - хирургические инфекции в т.ч. инфекции в области хирургического вмешательства; - инфекции мочеполовых органов; - гнойно-воспалительные заболевания новорожденных; - инфекции кожи, вызванные указанными возбудителями; - другие заболевания, вызванные указанными возбудителями
Применение, схемы и режим дозирования	Согласно инструкции производителя
Необходимое условие эффективной фаготерапии	Применение препарата с литической активностью +++++, предварительно подтвержденной в лабораторных условиях
Степень доказательной обоснованности рекомендаций по применению препарата	C, D

Таблица 14

Пиобактериофаг комплексный жидкий

Название препарата	Пиобактериофаг комплексный жидкий
---------------------------	--

Фармакотерапевтическая группа	МИБП – бактериофаг Код АТХ V03A
Регистрационный номер	ЛС- 000700
Форма выпуска	Раствор для приема внутрь, местного и наружного применения во флаконах по 20 мл
Описание лекарственной формы	Прозрачная жидкость желтого цвета различной интенсивности, допускается зеленоватый оттенок
Специфическая направленность	Препарат вызывает специфический лизис бактерий <i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Streptococcus spp.</i> , <i>Enterococcus spp.</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>K. oxitoca</i>
Показания	Лечение и профилактика гнойно-воспалительных и кишечных инфекций, вызванных указанными возбудителями: - кишечные инфекции, дисбактериоз кишечника; - инфекции ЛОР-органов; - хирургические инфекции в т.ч. инфекции в области хирургического вмешательства; - инфекции мочеполовых органов; - гнойно-воспалительные заболевания новорожденных; - инфекции кожи, вызванные указанными возбудителями; - другие заболевания, вызванные указанными возбудителями
Применение, схемы и режим дозирования	Согласно инструкции производителя
Необходимое условие эффективной фаготерапии	Применение препарата с литической активностью +++++, предварительно подтвержденной в лабораторных условиях
Степень доказательной обоснованности рекомендаций по применению препарата	C, D

Таблица 15

Секстафаг®

Название препарата	Секстафаг® (пиобактериофаг поливалентный)
Фармакотерапевтическая группа	МИБП – бактериофаг Код АТХ V03A
Регистрационный номер	ЛС – 001049
Форма выпуска	Раствор для приема внутрь, местного и наружного применения во флаконах по 20 мл
Описание лекарственной формы	Прозрачная жидкость желтого цвета различной интенсивности, допускается зеленоватый оттенок
Специфическая направленность	Препарат вызывает специфический лизис бактерий <i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Streptococcus spp.</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i>
Показания	Лечение и профилактика гнойно-воспалительных и кишечных инфекций, вызванных указанными

	<p>возбудителями:</p> <ul style="list-style-type: none"> - инфекции ЛОР-органов; - хирургические инфекции в т.ч. инфекции в области хирургического вмешательства; - инфекции мочеполовых органов; - кишечные инфекции, дисбактериоз кишечника; - гнойно-воспалительные заболевания новорожденных; - инфекции кожи, вызванные указанными возбудителями; - другие заболевания, вызванные указанными возбудителями
Применение, схемы и режим дозирования	Согласно инструкции производителя
Необходимое условие эффективной фаготерапии	Применение препарата с литической активностью +++++, предварительно подтвержденной в лабораторных условиях
Степень доказательной обоснованности рекомендаций по применению препарата	C, D

Литература:

1. Национальная концепция профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 06.11.2011) // Справочно-правовая система «Консультант Плюс»: [Электронный ресурс] /Компания «Консультант Плюс».
2. Информационный бюллетень №194. – Март 2012 г. – Всемирная организация здравоохранения: [Электронный ресурс] //URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/ru> (Дата обращения: 24.02.2014).
3. Дарбеева О.С., Майская Л.М., Малышева В.Ф. и соавт. Фаготерапия гнойно-воспалительных заболеваний в урологическом стационаре // Материалы междунар. конф. памяти акад. РАМН И.Н. Блохиной "Фундаментальные и прикладные проблемы медицинской биотехнологии". – М., 2000. – С. 67-69.
4. Кисина В.И., Перепанова Т.С., Забиров К.И. и соавт. Фаготерапия воспалительных урогенитальных заболеваний у женщин // Вестник дерматологии и венерологии. – 1996. – № 5. – С. 45-48.
5. Лазарева Е.Б., Смирнов С.В., Хватов В.Б. и соавт. Эффективность применения бактериофагов в комплексном лечении больных с ожоговыми травмами // Антибиотики и химиотерапия. - 2001. - № 1. - С. 10-14.
6. Асланов Б. И., Яфаев Р.Х., Зуева Л.П. Пути рационального использования синегнойных бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 2003. - №5. - С. 72-76.
7. J.P. Pirnay, D. De Vos, G. Verbeken, M. Merabishvili, N. Chanishvili et al. The Phage Therapy Paradigm: Pret-a-Porter or Sur-mesure? – Pharmaceutical Research. – 2011. – v. 4. – P. 934-937.
8. Summers, W. C., Bacteriophage therapy // Annu Rev Microbiol. – 2001. – №55. – P. 437-451.
9. Brüßow H. Phage therapy: the western perspective. In: Mc Grath S, van Sinderen D, editors. Bacteriophage: Genetics and Microbiology. Norfolk. UK: Caister Academic Press, 2007. –P. 159–192.
10. Górski A, Borysowski J, Miedzybrodzki R, Weber-Dabrowska B. Bacteriophages in medicine. In: Mc Grath S, van Sinderen D, editors. Bacteriophage: Genetics and Microbiology. Norfolk. UK: Caister Academic Press, 2007. — P. 125–158.

11. Каталог продукции ФГУП «НПО «Микроген»: [Электронный ресурс] //URL: <http://www.microgen.ru/catalog> (Дата обращения: 24.02.2014).
12. Зурабов А.Ю., Каркищенко Н.Н., Попов Д.В., Жиленков Е.Л., Попова В.М. Создание отечественной коллекции бактериофагов и принципы разработки лечебно-профилактических фаговых препаратов // Биомедицина. – 2012. – №1. – С.134-138.
13. Canchaya C. The impact of prophages on bacterial chromosomes / C. Canchaya, G. Fournous, H. Brüssow // *Mol Microbiol.* – 2004. – Vol. 53(1). – P. 9-18.
14. Brüssow H. Phages and the evolution of bacterial pathogens: from genomic rearrangements to lysogenic conversion / H. Brüssow, C. Canchaya, W.D. Hardt // *Microbiol Mol Biol Rev.* – 2004. – Vol. 68(3). – P. 560-602.
15. Mazaheri Nezhad Fard R. Bacteriophage-mediated transduction of antibiotic resistance in enterococci / R. Mazaheri Nezhad Fard, M.D. Barton, M.W. Heuzenroeder // *Lett Appl Microbiol.* – 2011. – Vol. 52(6). – P. 559 – 564.
16. Schicklmaier P. Frequency of generalized transducing phages in natural isolates of the *Salmonella typhimurium* complex / P. Schicklmaier, H. Schmieger // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1995. – Vol. 61. – P. 1637-1640.
17. Pretorius G.H. *Proteus mirabilis* phages 5006M, 5006M HFT k and 5006M HFT ak: physical comparison of genome characteristics / G.H. Pretorius, W.F. Coetsee // *J Gen Virol.* – 1980. – Vol. 49(1). – P. 33-39.
18. Varga M. Efficient transfer of antibiotic resistance plasmids by transduction within methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 clone / M. Varga, L. Kuntová, R. Pantůček, et al. // *FEMS Microbiol Lett.* – 2012. – Vol. 332(2). – P. 146–152.
19. Groman N.B. Genetic factors in *Corynebacterium diphtheriae* conversion / N.B. Groman, M. Eaton // *J Bacteriol.* – 1995. – Vol. 70(6). – P. 637-640.
20. Парфенюк Р.Л. Микробиологические основы пероральной фаготерапии гнойно-воспалительных заболеваний: Автореферат дис. ... канд. биол. наук. – М., 2004. – 24с.
21. Асланов Б.И., Долгий А.А., Гончаров А.Е., Архангельский А.И. Эпидемиологические особенности формирования патогенных свойств *E.coli* в урологическом стационаре // Профилактическая и клиническая медицина. – 2012. – № 1 (42). – С.117-121.
22. Асланов Б.И., Долгий А.А., Гончаров А.Е., Архангельский А.И. Эпидемиологические особенности формирования патогенных свойств

- Klebsiella* sp. и *Pseudomonas* sp. в урологическом стационаре // Профилактическая и клиническая медицина. – 2012. – № 3 (44). – С.50-54.
23. Асланов Б.И., Долгий А.А., Гончаров А.Е., Сагиева Н.Р., Крицкая И.В., Шаляпина Н.А.. Оценка спектра генов вирулентности у инфекционных агентов - штаммов *pseudomonas* sp. // Профилактическая и клиническая медицина. – 2013. – № 1 (46). – С.63-65.
24. Зуева Л.П., Асланов Б.И., Долгий А.А., Гончаров А.Е., Архангельский А.И. Бактериофаги - факторы эволюции госпитальных штаммов и средства борьбы с инфекциями // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2012. - №1. – С. 9-13.
25. Wright A, Hawkins C, Ånggard E, et al. A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: a preliminary report of efficacy // *Clin Otolaryngol.* – 2009. – №34. – P. 349–357.
26. Акимкин В.Г., Покровский В.И. Нозокомиальный сальмонеллез взрослых. М.: Издательство РАМН, 2002. – 136 с.
27. Дроздова О.М., Брусина Е.Б. Применение бактериофагов в эпидемиологической практике: взгляд через столетие // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2010. – № 5. – С. 20–24.
28. Дрюккер В.В., Горшкова А.С.. Бактериофаги и их функционирование в биопленках // Изв. Иркут. гос. ун-та. Сер. Биология. Экология. – 2012. – Т. 5, № 3. – С. 8-16.
29. Лазарева Е.Б. Бактериофаги и пектины в коррекции нарушений микробиоценозов при гнойно-воспалительных процессах: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. – М., 2007. – 51с.
30. Мирошников К.А., Чертков О.В., Назаров П.А., Месянжинов В.В. Пептидогликанлизирующие ферменты бактериофагов – перспективные противобактериальные агенты // Успехи биологической химии. – 2006. – Т. 46.– С. 65-98.
31. Перепанова Т.С. Комплексное лечение и профилактика госпитальной инфекции мочевых путей: Автореферат дис. ... докт. мед. наук. – М., 1996. – 30с.
32. Хайруллин И.Н., Поздеев О.К., Шаймарданов Р.Ш. Эффективность применения специфических бактериофагов в лечении и профилактике

- хирургических послеоперационных инфекций // Казанский мед. журнал. – 2002. – № 4. – С. 258–261.
33. Kutateladze M., Adamia R. Bacteriophages as potential new therapeutics to replace or antibiotics // Trends Biotechnol. – 2010. – Vol. 28 (12). – P. 591–595.
 34. Loeffler JM, Nelson D, Fischetti VA. Rapid killing of *Streptococcus pneumoniae* with a bacteriophage cell wall hydrolase // Science. – 2001. – №294. – P. 2170-2172.
 35. Lu TK., Collins JJ. Dispersing biofilms with engineered enzymatic bacteriophage // Proc Natl Acad Sci USA. – 2007. – Vol. 104, №27. – P. 11197-11202.
 36. Hoe S, Semler DD, Goudie AD, Lynch KH, Matinkhoo S, Finlay WH, Dennis JJ, Vehring R. Respirable Bacteriophages for the Treatment of Bacterial Lung Infections // J Aerosol Med Pulm Drug Deliv. – 2013. – Vol. 26, №6. – P. 317-335.
 37. Barbier F, Andremont A, Wolff M, Bouadma L. Hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia: recent advances in epidemiology and management // Curr Opin Pulm Med. – 2013. – Vol.19, №3. – P. 216-228.
 38. Debarbieux L, Leduc D, Maura D, et al. Bacteriophages can treat and prevent *Pseudomonas aeruginosa* lung infections // J Infect Dis. – 2010. – Vol. 201, №7. – P. 1096–1104.
 39. Morello E, Saussereau E, Maura D, et al. Pulmonary bacteriophage therapy on *Pseudomonas aeruginosa* cystic fibrosis strains: first steps towards treatment and prevention. PLoS One 2011; 6:e16963.
 40. Бондаренко А.В., Ларина Т.А., Богомолова Н.С., Большаков Л.В. // Антибиотики и химиотерапия. – 2005. – Т.50, № 2-3. – с.42-47.
 41. Rhoads DD, Wolcott RD, Kuskowski MA, Wolcott BM, Ward LS, Sulakvelidze A. Bacteriophage therapy of venous leg ulcers in humans: results of a phase I safety trial // J Wound Care. – 2009. – Vol.18. – P. 237–243.
 42. Sulakvelidze A. Using lytic bacteriophages to eliminate or significantly reduce contamination of food by foodborne bacterial pathogens.// J Sci Food Agric. – 2013. – Vol.93, №13. – P.3137-3146.
 43. McCallin S, et al. Safety analysis of a Russian phage cocktail: from metagenomic analysis to oral application in healthy human subjects // Virology. – 2013. – Vol. 443, №2. – P. 187-196.
 44. Sarker S.A. Oral T4-like phage cocktail application to healthy adult volunteers from Bangladesh // Virology. – 2012. – Vol. 434, №2. – P. 222-232.

45. Захарова Ю.А., Падруль М.М., Николаева А.М. и соавт. Микробиологическая диагностика инфекций мочевых путей у женщин при беременности и использование препаратов бактериофагов при данной патологии // Методические рекомендации. Пермь, 2007. – 29 с.