

УДК 615.371:577.27:615.014.2

Н.И. Филимонова, Е.М. Дикая, Мохамад Эль Алаати

Национальный фармацевтический университет

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИГОДНОСТИ БАКТЕРИОФАГОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПРЕПАРАТОВ ИММУНОПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Изучены иммунопрофилактические свойства умеренных бактериофагов на экспериментальной модели генерализованной стафилококковой инфекции белых мышей. Подтверждена способность бактериофагов проявлять выраженный лечебно-профилактический эффект в отношении условно-патогенных грамотрицательных бактерий. Установлена целесообразность направленного использования умеренных бактериофагов при разработке аттенуированных вакцин.

Ключевые слова: стафилококковая инфекция; умеренные бактериофаги; аттенуированные вакцины; иммунопрофилактические свойства

ВСТУПЛЕНИЕ

На сегодняшний день в общей структуре заболеваний человека от 20 до 40% приходится на инфекционные болезни. Являясь одной из главных причин преждевременной смерти в мире, инфекционные заболевания ежегодно убивают более 16 миллионов людей, нанося при этом колоссальный экономический ущерб человечеству. Достижения в области химиотерапии и иммунопрофилактики, пришедшиеся на 50-70-х гг. XX столетия, вселили надежду на безоговорочную победу над инфекциями. Однако сегодня в мире регистрируются эпидемии, которые в результате ослабления системы надзора над инфекционными заболеваниями вновь бесконтрольно распространяются по земному шару.

Согласно статистике ВОЗ среди инфекционных возбудителей преобладают условно-патогенные микроорганизмы, что подтверждается тем, что в свое время стафилококковая инфекция была признана «чумой XX века», а иные грамотрицательные представители этих таксономических видов на госпитальном уровне отягощают постоперационные процессы [7, 8]. В этой связи соответствующие разделы создания иммунобиотехнологических препаратов, исключая убитую стафилококковую вакцину и стафилококковый анатоксин, на субстратной основе грамположительных условно патогенных возбудителей остаются недостаточно разработанными.

Опыт прошедших десятилетий показал, что использование вакцин с иммунопрофилактиче-

ской целью остается наиболее эффективной мерой борьбы с инфекционными заболеваниями [3, 5]. Однако в последнее время стали поступать сведения об участвовавших постпрививочных осложнениях: аллергические и энцефалические реакции, пневмонии, кишечные дисфункции, развитие остеоитов, холодных абсцессов и т.д. [2, 6]. Снижение числа возникновения постпрививочных осложнений заставляет ученых всего мира проводить работы по созданию эффективных вакцин на основе бактериальных препаратов.

Целью исследования было микробиологическое обоснование целесообразности использования бактериофагов по иммунопрофилактическому назначению.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Направленная иммунопрофилактическая способность разработанной вакцины изучена на примере генерализованной стафилококковой инфекции при внутрибрюшинном введении 24-х часовой культуры *S. aureus* ATCC 25923. Исследования проведены на белых беспородных мышках массой 18-20 г [4]. LD₅₀ используемого штамма *S. aureus* определяли по Керберу в модификации И.П. Ашмарина и А.А. Воробьева [1]. Оценка эффективности препарата проводили по разности выживших животных в опытной (получавших) и контрольной (не получавших препарат) группах, за которыми наблюдали в течение 3-4 недель. Статистическую обработку полученных данных по выживаемости животных в опытных и контрольных группах проводили по критерию

Стьюдента, по защитному эффекту – с использованием критерия согласия χ^2 .

Наравне с представленными для экспериментальной апробации иммунобиотехнологическими препаратами в качестве контрольного сопоставления использованы коммерческие образцы обезвреженной стафилококковой вакцины и стафилококковый анатоксин.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных исследований доказывают целесообразность направленного использования умеренных бактериофагов как индуктивного фактора при разработке аттенуированных вакцин и вирулентных бактериофагов. Особое внимание привлекает возможность создания иммунопрофилактических препаратов в отношении условно-патогенных грамотрицательных бактерий.

В исходной серии запланированных исследований в контрольном сопоставлении с официальными стафилококковыми иммуногенами оценена перспективность иммунобиотехнологических препаратов, разработанных на основе субстратного влияния специфических бактериофагов. Достаточность иммунизаторных эффектов оценена при разрешающем внутрибрюшинном заражении вирулентным штаммом *S. aureus* в дозе 400 млн м.т.

В соответствии с клиническим наблюдением исхода заражения нелеченной группы белых мышей установлена закономерная гибель 80-100%

животных с патоморфологическим подтверждением диагноза генерализованной стафилококковой септикопиемии.

Интервал между исходом иммунизации и заражением отконтролирован серологическим подтверждением накопительного содержания антистафилококковых антител в титрах 1:64-1:128.

Объективный анализ результатов проведенных исследований демонстрирует, что все испытуемые иммуногены в результате вакцинации обеспечивают формирование удовлетворительных эффектов при профилактике экспериментальной стафилококковой инфекции. При этом реализованные профилактические эффекты приоритетно реализуются через специфическую активизацию гуморальной системы иммунитета.

В контексте анализа полученных результатов в качестве отправного положения целесообразно отметить, что по условиям принятого методического исполнения опыты проведены в отягощенном воспроизведении генерализованной стафилококковой инфекции.

Установлено, что в контрольных группах неиммунизированных белых мышей смертность от внутрибрюшинного заражения составила 80%. Одновременно общим знаменателем от проведенной иммунизации зарегистрирована эффективная профилактическая защита иммунизированных белых мышей от развития смертельно протекающей генерализованной стафилококковой инфекции.

Таблица

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ДОСТАТОЧНОСТЬ СРАВНИВАЕМЫХ ИММУНОГЕНОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ СТАФИЛОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ

Показатели	Контроль	Сравниваемые иммуногены			
		аттенуированная вакцина	химическая вакцина	убитая вакцина	анатоксин
Количество мышей в группе	10	10	10	10	10
Доза п/к иммунизации	-	15 мкг	15 мкг	15 мкг	15 мкг
Поствакцинальный титр антител	-	1:95	1:128	1:80	1:65
Интервал между иммунизацией и заражением, сут	-	15	15	15	15
Доза п/к заражения	400 млн м.т	400 млн м.т	400 млн м.т	400 млн м.т	400 млн м.т
Выжило	2	7	9	8	6
Погибло	8	3	1	2	4
Септикопиемии	8	0	0	2	4

В группах животных, иммунизированных разработанными биотехнологическими препаратами, профилактический эффект составил 100%. Одновременно в группах белых мышей, контрольно иммунизированных убитой стафилококковой вакциной, защитный эффект составил 80%, а при иммунизаторном использовании стафилококкового анатоксина – соответственно 60% (табл.).

ВЫВОДЫ

Представлены результаты исследований, которые подтверждают профилактическую состоятельность разработанных биопрепаратов в целях предупреждения стафилококковой инфекции. Доказано, что апробированная на микробиологической модели стафилококка разработанная биотехнология создания вакцинных препаратов не лишена перспективности для других грамположительных кокков в качестве бактерий-доноров, например, для гемолитического стрептококка.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ ИНФОРМАЦИИ

1. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях / И.П. Ашмарин, А.А. Воробьев. – Л., 1962. – 234 с.
2. Львова И.И. Мониторинг событий поствакцинального периода / И.И. Львова // Эпидемиол. и инфекционные болезни. – 2004. – №5. – С. 34-38.
3. Медуницын Н.В. Вакцинология. – М.: Триада-Х, 1999. – 282 с.
4. Першин Г.Н. Современные методы химиотерапии. – М., 1971. – 321 с.
5. Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э. Клиническая эпидемиология (основы доказательной медицины). – М.: Изд-во «Медиа Сфера». 1998. – С. 129-135.
6. Fedson David S. Measuring protection: efficacy of effectiveness. – Pasteur Merieux MSD Lyon, France, International Publication.
7. Giesecke J. Modern Infectious Disease Epidemiology. – London. Sydney. Auckland, 1994.
8. Orenstein W. – Bull. WHO. – 1985. – Vol. 63. – P. 1055-1068.

УДК 615.371:577.27:615.014.2

Н.І. Філімонова, О.М. Дика, Мохамад Ель Алааті

**МІКРОБІОЛОГІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ПРИДАТНОСТІ БАКТЕРІОФАГІВ ДЛЯ
СТВОРЕННЯ ПРЕПАРАТІВ ІМУНОПРОФІЛАКТИЧНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ**

Вивчені імунопрофілактичні властивості помірних бактеріофагів на експериментальній моделі генералізованої стафілококової інфекції білих мишей. Підтверджена здатність бактеріофагів проявляти визначний лікувально-профілактичний ефект у відношенні умовно-патогенних гноєрідних бактерій. Встановлена доцільність спрямованого використання помірних бактеріофагів при розробці атенуйованих вакцин.

Ключові слова: стафілококова інфекція; помірні бактеріофаги; атенуйовані вакцини; імунопрофілактичні властивості

UDC 615.371:577.27:615.014.2

N.I. Filimonova, O.M. Dyka, Mohamad El Alaati

**MICROBIOLOGICAL RATIONALE FOR THE SUITABILITY OF BACTERIOPHAGES
FOR CREATING DRUGS IMMUNOPREVENTIONAL DESTINATION**

It was studied the properties of temperate bacteriophages immunization on the experimental model of generalized staphylococcal infection in white mice. Confirmed the ability of bacteriophages to show pronounced therapeutic and preventive treatment against opportunistic pyogenic bacteria. The expediency of the use of directed temperate phages in the development of attenuated vaccines.

Key words: staphylococcal infection; temperate bacteriophages; attenuated vaccines; immunization properties

Адреса для листування:

61002, м. Харків, вул. Мельнікова, 12.

Кафедра мікробіології, вірусології та імунології
НФаУ.

Тел: (057) 706-30-67.

Надійшла до редакції: 12.09.10