

Terapia fagowa jako alternatywa w leczeniu zakażeń wywołanych przez bakterie antybiotykooporne

Phage therapy as an alternative to infections with antibiotic-resistant bacteria



Ryszard Międzybrodzki^{1,2}, Jan Borysowski³, Wojciech Fortuna^{1,2},
Beata Weber-Dąbrowska^{1,2}, Andrzej Górski^{1,2,3}

¹Laboratorium Bakteriofagowe, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Wrocław

²Ośrodek Terapii Fagowej NZOZ przy Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Wrocław

³Instytut Transplantologii AM, Warszawa

Kardiochirurgia i Torakochirurgia Polska 2006; 3 (2): 201–205

Streszczenie

Olbrzymi wzrost lekooporności bakterii jest jednym z najważniejszych wyzwań współczesnej medycyny. Niektórzy eksperci uważają, że zbliżamy się do *ery przedantybiotykowej*. Sytuacja ta sprawiła, że wzrosło zainteresowanie potencjalnym zastosowaniem bakteriofagów (wirusów bakteryjnych) w leczeniu lekoopornych zakażeń bakteryjnych. W ostatnich latach większość najpoważniejszych periodyków biomedycznych zamieściła artykuły na ten temat. W niniejszej pracy przedstawiamy zarys postępu i obecną sytuację w terapii fagowej. Jak ostatnio podkreślono w *Nature Medicine*, nasz ośrodek jest jedynym stosującym tę metodę leczenia w Unii Europejskiej zgodnie z aktualnymi wymogami (zgoda komisji bioetycznej, świadoma zgoda chorych i ubezpieczenie). Pozostałe dane zawarte są na naszej stronie fagowej: <http://www.iitd.pan.wroc.pl/phages/phages.html>.

Słowa kluczowe: bakteriofagi, antybiotykooporność, terapia fagowa.

Komisja Europejska, amerykańska *Food and Drug Administration* i wiele organizacji międzynarodowych (np. Światowa Organizacja Zdrowia) uznało walkę z lekoopornością drobnoustrojów za działanie priorytetowe. Jednak, jak wskazują wyniki analiz, poszukiwanie nowych leków przeciwbakteryjnych przez przemysł farmaceutyczny jest ograniczone, m.in. ze względu na rosnące koszty związane z prowadzeniem stosownych badań naukowych, niski zwrot poniesionych kosztów i wysokie ryzyko związane z możliwością stosunkowo szybkiego wytworzenia się oporności [1]. Pojawiły się już bakterie Gram-dodatnie

Abstract

The increasing resistance of bacteria to all available antibiotics constitutes one of the greatest challenges to medicine today. In fact, some experts believe that we are entering a pre-antibiotic era. The growing problem of antibiotic resistance has revived interest in the potential use of bacteriophages (bacterial viruses) for treating drug-resistant infections. In recent years, most leading biomedical journals have published reviews addressing this issue. This article presents in some detail an outline of the developments as well as the current status of phage therapy. As recently pointed out by *Nature Medicine*, our phage clinic is the only phage therapy centre offering official treatment in the European Union (with all the necessary conditions, including institutional review board approvals, informed consent, and insurance). Our activities and most recent publications are presented on our phage website: <http://www.iitd.pan.wroc.pl/phages/phages.html>.

Key words: bacteriophage, antibiotic-resistance, phage therapy.

oporne na linezolid i chinuprystynę/dalfoprystynę – antybiotyki wprowadzone niedawno do leczenia zakażeń wywołanych przez szczepy oporne na wankomycynę [2]. Problemy związane z zakażeniami tymi bakteriami dotyczą również Polski [3]. Niestety, w coraz większym odsetku przyczyną infekcji wieloopornymi bakteriami są nie tylko zakażenia szpitalne, ale i nabyte poza tym środowiskiem [4]. Wśród alternatywnych wobec antybiotyków i chemioterapeutyków sposobów zwalczania infekcji bakteryjnych, w tym zakażeń szczepami wieloopornymi, coraz częściej wymienia się terapię z użyciem bakteriofagów [5–8].

Adres do korespondencji: prof. dr hab. n. med. Andrzej Górski, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, ul. Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, tel. +48 71 337 34 91, faks +48 71 337 21 71, e-mail: agorski@ikp.pl

Bakteriofagi jako potencjalny środek w leczeniu zakażeń bakteryjnych

Bakteriofagi (w skrócie fagi) to wirusy bakteryjne bardzo rozpowszechnione w przyrodzie – zasiedlają glebę, oceany, a nawet gorące źródła [9]. Występują również w pokarmie i organizmach ludzi oraz zwierząt (izolowano je np. z ludzkiego kału). Podane doustnie mogą przenikać do krwiobiegu i być wydalane z moczem [10–12]. Bakteriofagi szybko penetrują z krwi do wątroby i śledziony, a także nerek, grasicy i otrzewnej [9]. Dystrybucja fagów do narządów może też się odbywać poprzez naczynia limfatyczne [13]. Wykazano, że mogą pokonywać barierę krew-mózg, nie tracąc zdolności do niszczenia bakterii [14].

Bakteriofagi infekują wyłącznie komórki bakteryjne. W komórce gospodarza możliwe są 2 podstawowe cykle życiowe fagów: lizogenny i lityczny. W cyklu lizogennym materiał genetyczny wirusa zostaje wbudowany do genomu bakterii i wraz z nim ulega replikacji, przez długi czas nie wywierając na komórkę szkodliwego wpływu. Głównym celem cyklu litycznego jest natomiast namnażanie fagów, czego konsekwencją jest śmierć komórki gospodarza [15]. Zdolność efektywnego zabijania bakterii implikuje możliwość zastosowania fagów litycznych w profilaktyce i leczeniu infekcji bakteryjnych.

Fundamentalną cechą fagów, jako potencjalnych leków przeciwbakteryjnych, jest silne działanie bakteriobójcze *in vitro* i *in vivo* zarówno przeciw bakteriom Gram-dodatnim, jak i Gram-ujemnym. W klasycznych doświadczeniach Smitha i Hugginsa, pojedyncza dawka kolifaga była bardziej skuteczna od powtarzanych dawek 4 różnych antybiotyków w mysim modelu infekcji *E. coli* [16]. Tak dużą skuteczność fagów tłumaczy się ich unikatową zdolnością replikacji w komórkach bakteryjnych, dzięki której liczba wirionów zwiększa się w miejscu toczącej się infekcji. Ze względu na brak możliwości namnażania w komórkach eukariotycznych, po eradykacji bakterii miano fagów zmniejsza się aż do całkowitego ich usunięcia z ustroju (np. wydalanie z moczem, kałem). Możliwość replikacji nabiera szczególnego znaczenia w wypadku leczenia infekcji rozwijającej się w gorzej ukrwionych tkankach; do eliminacji bakterii wystarczy wówczas dotarcie do zakażonego obszaru nawet małej liczby wirionów. Równocześnie możliwość namnażania w komórkach bakteryjnych znacznie utrudnia charakterystykę BF pod względem farmakokinetycznym [17].

Wielkie znaczenie ma zdolność zabijania przez fagi bakterii antybiotykoopornych, co udowodniono na mysim modelu infekcji wywołanej przez opornego na metycylinę gronkowca złocistego (MRSA) [18], oporne na wankomycynę enterokoki (VRE) [19], wielooporny szczep *P. aeruginosa* [20] oraz *E. coli* wytwarzające β -laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBL) [21]. Również w tych pracach do wyleczenia zakażenia wystarczyła zaledwie jedna dawka faga. Warto ponadto odnotować możliwość uzyskania efektu synergistycznego w działaniu przeciwbakteryjnym faga i antybiotyku, co wykazano w modelu infekcji *E. coli* u kurcząt [22].

Najważniejszym elementem ograniczającym skuteczność działania leków przeciwbakteryjnych jest rozwój opor-

ności. Przyjmuje się, że ryzyko jej powstania jest w wypadku bakteriofagów mniejsze niż dla antybiotyków, dzięki możliwości zachodzenia w genomie faga mutacji, które mogą umożliwić łatwiejszą adaptację do mutujących komórek bakteryjnych [23]. Poza tym, przynajmniej w niektórych wypadkach, rozwój oporności na bakteriofagi wiąże się ze zmniejszeniem zjadliwości bakterii [16].

Wiele prac przedklinicznych dokumentuje nie tylko wysoką skuteczność fagoterapii, lecz również jej bezpieczeństwo. Praktycznie w żadnym z kontrolowanych badań eksperymentalnych z użyciem oczyszczonych preparatów fagowych nie zaobserwowano u zwierząt doświadczalnych objawów ubocznych. Przykładem są 4 niedawno opublikowane prace na temat leczenia bakteriemii wywołanej *S. aureus* [18], *E. faecium* [19], *P. aeruginosa* [20] i *E. coli* [21]. W żadnej z nich nie stwierdzono u myszy objawów niepożądanych, które teoretycznie mogły być oczekiwane, np. jako konsekwencja masywnej bakteriolyzy.

Jednym z głównych problemów znacznie utrudniających zastosowanie terapii fagowej jest wąskie spektrum działania przeciwbakteryjnego bakteriofagów. Najczęściej jest ono ograniczone do części szczepów w obrębie jednego gatunku bakterii [19]. Jest to korzystne, gdyż umożliwia eliminację bakterii patogennych bez naruszenia równowagi naturalnej mikroflory, co może być konsekwencją antybiotykoterapii. Z drugiej jednak strony, wąski zakres działania przeciwbakteryjnego w praktyce powoduje, że konieczna jest ocena *in vitro* wrażliwości czynnika etiologicznego na bakteriofagi przed podaniem preparatu fagowego pacjentowi. Inne rozwiązanie to zastosowanie koktajlu fagowego, czyli kilku różnych fagów, wspólnie zapewniających szerszy zakres działania przeciwbakteryjnego. Istnieją również metody oparte na wielokrotnym pasażowaniu, które umożliwiają otrzymanie nowych wrażliwych fagów w przypadku utraty przez nie zdolności do lizy specyficznych bakterii [24].

Drugim istotnym problemem znacznie ograniczającym skuteczność fagoterapii jest szybki klirens fagów, uzależniony głównie od niespecyficznego wychwytywania wirionów przez komórki układu siateczkowo-śródbłonkowego wątroby i śledziony. Dobrym rozwiązaniem jest izolacja wariantów bakteriofagów cechujących się wydłużonym okresem półtrwania w surowicy. Są one dość łatwe do uzyskania przy użyciu metody seryjnego pasażu u myszy [11]. Interakcje fagów i komórek bakteryjnych mogą być również zaburzone przez swoiste przeciwciała przeciwfagowe, co może ograniczać efektywność terapii, zwłaszcza po podaniu wielokrotnych dawek fagów. Do tej pory nie zaproponowano skutecznej metody ograniczającej ich immunogenność, sugeruje się jedynie zwiększenie kolejnych dawek lub podanie fagów o podobnym zakresie działania przeciwbakteryjnego, lecz odmiennej specyficzności antygenowej [23]. Trzeba jednak pamiętać, że podawanie doustne może nie pobudzać produkcji przeciwciał, ponieważ taka droga podawania antygeny wiedzie często do tolerancji.

Warto ponadto podkreślić, że skuteczność fagoterapii u zwierząt była dotychczas oceniana wyłącznie na mode-

lach ostrych infekcji. Niektórzy eksperci kwestionują możliwość uzyskania równie wysokiej efektywności w leczeniu zakażeń przewlekłych [25].

Fagoterapia w praktyce klinicznej

Zdolność efektywnego zabijania bakterii implikuje możliwość zastosowania fagów litycznych w profilaktyce i leczeniu infekcji bakteryjnych. Pierwsze próby w tej dziedzinie podjęto już na początku lat 20. XX wieku, kilka lat po odkryciu bakteriofagów. Fagi nigdy jednak nie zdobyły silnej pozycji w medycynie zachodniej, a zainteresowanie nimi znacznie zmniejszyło się po wprowadzeniu pierwszych antybiotyków. Od odkrycia bakteriofagów w roku 1917 do połowy lat 40. XX wieku opublikowano setki prac opisujących zastosowanie fagów w leczeniu biegunek i innych infekcji u ludzi [7, 26]. Również w Polsce w latach międzywojennych XX wieku prowadzono próby tego rodzaju leczenia w znanej Klinice Chirurgicznej Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie [27]. W tym czasie na świecie produkowano nawet komercyjnie preparaty fagowe. Jednak z powodu kontrowersyjnych wyników spowodowanych słabą znajomością natury fagów, ich niewłaściwym stosowaniem (np. przeciwko niewrażliwym bakteriom czy chorobom o etiologii innej niż bakteryjna), a także szybkiego rozwoju antybiotykoterapii, w krajach zachodnich zarzucono ten kierunek badań [7]. W II połowie XX wieku BF były stosowane głównie w Europie Środkowej i Wschodniej, gdzie dwoma największymi ośrodkami fagoterapii były (i są nadal) Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu (najważniejsze publikacje instytutu z tego zakresu są dostępne pod adresem internetowym: <http://surfer.iitd.pan.wroc.pl/phages/phages.html>) i Instytut Eliawy w Tibilisi [26, 28]. Od kilku lat obserwuje się olbrzymi wzrost zainteresowania zastosowaniem fagów w profilaktyce i leczeniu infekcji bakteryjnych. Wiele prywatnych firm w USA, Kanadzie, Wielkiej Brytanii i Izraelu zaczęło prowadzić intensywne badania związane z terapią fagową [5].

Pod koniec 2005 r. Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu otworzył pierwszy w Unii Europejskiej Ośrodek Terapii Fagowej, w którym prowadzone jest eksperymentalne leczenie chorych zakażonych antybiotykooopornymi bakteriami za pomocą bakteriofagów, zgodnie z aktualnymi wymogami terapii eksperymentalnej. *Nature Medicine* określiło to wydarzenie jako fundamentalny krok naprzód w terapii fagowej [29].

W kolekcji Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu znajduje się ponad 300 fagów, które mogą być stosowane u chorych z zakażeniami wywołanymi przez bakterie z rodzaju *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Shigella*, *Serratia*, *Salmonella*, *Proteus*, *Pseudomonas* i *Stenotrophomonas*. Preparaty fagowe przygotowywane są wg zmodyfikowanej procedury Ślopka i wsp. indywidualnie dla każdego chorego [30, 31]. Pierwszym etapem jest znalezienie w kolekcji faga, wykazującego aktywność lityczną przeciwko szczepowi bakterii wyhodowanemu od pacjenta – proces ten nazywa się *typowaniem fagowym*. Materiał mikrobiolo-

giczny do typowania fagowego stanowią z reguły już zidentyfikowane szczepy bakteryjne, wyizolowane od pacjenta, dostarczone do Laboratorium Bakteriofagowego na skosie albo płytce agarowej odpowiedniej dla danego szczepu. Jeśli wynik typowania jest dodatni, w drugim etapie wyselekcjonowany rodzaj bakteriofagów namnaża się na odpowiednim szczepie bakterii pochodzącym z kolekcji Instytutu lub szczepie wyhodowanym od pacjenta. Uzyskuje się w ten sposób tzw. lizat fagowy, w którym oprócz cząstek fagowych w wodzie peptonowej znajdują się produkty przemiany i rozkładu bakterii. Lizat przesącza się przez filtr bakteryjny, oznacza w nim miano fagów, ampukuje (po 5 ml lub 10 ml) i kontroluje jałowość preparatów, które dalej przechowuje się w temperaturze 2–8°C.

W latach 1981–1986, we współpracy Instytutu z klinikami Akademii Medycznej we Wrocławiu i innymi szpitalami, terapię fagową zastosowano u 550 chorych w wieku od 1. tygodnia do 86 lat, z różnymi spontanicznymi lub pooperacyjnymi ropnymi infekcjami wywołanymi przez bakterie z rodzajów *Staphylococcus* (73,1% przypadków), *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomonas* [32]. W 32,4% przypadków występowała infekcja mieszana, a 94,2% wszystkich chorych było wcześniej nieskutecznie leczonych antybiotykami. Bakteriofagi stosowano doustnie i miejscowo. Podawano je 3 razy dziennie po 10 ml, 30 min przed jedzeniem, po uprzedniej neutralizacji soku żołądkowego. Leczenie prowadzono od 1 do 12 tyg. (średnio 5 tyg.). W 152 przypadkach fagi podawano równolegle z antybiotykami, natomiast u 398 pacjentów zastosowano same fagi. Odsetek osób, u których infekcja spowodowana była szczepem antybiotykooopornym, wynosił 94,2%. Pozytywne wyniki leczenia (oparte na ocenie skuteczności eliminacji procesu ropnego, gojeniu zmian miejscowych i posiewach) uzyskano u ponad 92,4% chorych. Najlepsze wyniki obserwowano u pacjentów z zespołem pozakrzepowym (ok. 76% wyleczeń), najlepsze – w zakażeniach przewodu pokarmowego, ostrym ropnym zapaleniu osierdza, czyrączności (niemal 100% skuteczności). Wysoką, co najmniej 90% skuteczność fagoterapii stwierdzono również w zapaleniu opon mózgowo-rdzeniowych, zapaleniu kości i szpiku, zapaleniu kości po złamaniu, zakażeniach układu moczowego, przewlekłych ropnych przetokach, zapaleniu powiek, spojówek, ucha środkowego, ropniach skóry, ropowicy, trądziku martwiczym i ropniach gruczołu piersiowego. Na podkreślenie zasługuje fakt, że aż w 87 z 98 przypadków posocznicy osiągnięto pozytywny efekt terapeutyczny. Bakteriofagami leczono (doustnie i miejscowo, średnio przez 4 tyg.) również 7 pacjentów po zabiegu na otwartym sercu i dużych naczyniach z ostrym ropnym zapaleniem osierdza, wywołanym przez *Staphylococcus* (5 przypadków) albo mieszaną infekcją *Staphylococcus* i *Pseudomonas* lub *Escherichia* (2 przypadki), u których antybiotykoterapia była nieskuteczna. Pozytywny efekt leczenia (całkowite wyleczenie lub eliminacja procesu ropnego i gojenie) obserwowano u 6 osób, a zadowolający u 1 [32, 33].

Od 1987 r. do 1999 r. terapię fagami zastosowano u 1307 pacjentów (w wieku od 4 tyg. do 89 lat) z różnymi zakaże-

niami bakteryjnymi szczepami wieloopornymi rodzajów *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter* [34]. Odsetek pozytywnych wyników typowania fagowego bakterii wyizolowanych od kwalifikowanych wtedy do terapii wynosił 95% dla szczepów *Staphylococcus*, 89% dla *Pseudomonas*, 81% dla *Escherichia* i 60% dla *Klebsiella*. Bakteriofagi podawano przez 1–12 tyg. (średnio 32 dni), wg schematu stosowanego w latach poprzednich. Całkowite wyleczenie (i eliminację bakterii) uzyskano u 85,9% osób, a poprawę, ale bez eradykacji patogenu u 10,4%. U 3,8% chorych terapia była nieskuteczna. Najlepsze wyniki uzyskano u pacjentów z ropnym zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych (100% całkowitych wyleczeń), zapaleniem kości i szpiku (95%), ropnym zapaleniem gruczołu piersiowego (93,1%), przewlekłymi ropnymi przetokami (93%), ropnym zapaleniem stawów i mięśni (89%), ropnym zapaleniem ucha środkowego (88,4%), posocznicą (87,7%). W grupie z ropnymi zakażeniami pooperacyjnymi, odsetek całkowitych wyleczeń wynosił 86% (u pozostałych stwierdzano poprawę, ale nie wyeliminowano bakterii).

Terapię fagową prowadzono z bardzo dobrym skutkiem u dzieci. Szczegółowa analiza jej wyników u 114 pacjentów w różnym wieku – od noworodków i niemowląt do 20. roku życia (39 pacjentów poniżej 3. roku życia, 29 pacjentów w wieku 14–20 lat) – wykazała, że u 95,5% z nich leczenie zakończyło się pozytywnym efektem (ocenianym na podstawie skuteczności eliminacji procesu ropnego oraz posiewach) niezależnie od wieku i natężenia stanu schorzenia [33]. Przyczyną zakażeń były szczepy *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus* lub *Pseudomonas* (monoinfekcje stwierdzono u 68,4% przypadków, a infekcje mieszane u 36,6%). U 64,9% osób stosowano wyłącznie fagoterapię, a u 35,1% fagi równocześnie z antybiotykami. Leczenie było szczególnie skuteczne w przypadku zakażeń przewodu pokarmowego i sepsy (95,2%), nosogardzieli, zatok przynosowych i ropnych zapaleń płuc (92,5%), zapalenia skóry i tkanki podskórnej, czyrączności (92,5%), zapalenia kości i mięśni (100%) oraz ropnych ran pooperacyjnych i urazów (100%).

Strój i wsp. na Oddziale Niemowlęcym Zespolego Szpitala Dziecięcego w Sosnowcu stosowali fagoterapię preparatem zawierającym pojedynczy szczep faga lizujący pałeczki *Klebsiella* u noworodka urodzonego w 35. tyg. ciąży poprzez cięcie cesarskie (1 punkt w skali Apgar), u którego od pierwszej doby występowały objawy posocznicy z ropnym zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych wywołanej przez oporny na stosowane antybiotyki szczep *Klebsiella pneumoniae* [35]. Preparat faga podawano przez 5 tyg. doustnie 3 razy dziennie po 5 ml, 30 minut przed karmieniem, po wcześniejszej neutralizacji soku żołądkowego. Uzyskano wyjątkowo płynny mózgowo-rdzeniowy, poprawę stanu ogólnego, przyrost masy ciała i normalizację wyników laboratoryjnych.

Bezpieczeństwo terapii fagowej

Dotychczas nie pojawiły się doniesienia sugerujące, że bakteriofagi mogą być przyczyną jakichkolwiek komplikacji lub schorzeń u ludzi. Wprawdzie mogą one pośredniczyć w przekazywaniu genów oporności na antybiotyki

między bakteriami, jednakowoż takich fagów nie stosuje się w terapii.

Istnieją pewne obawy, że fagi mogą spowodować szybkie zniszczenie dużej liczby bakterii Gram-ujemnych, co wiąże się z uwolnieniem endotoksyn bakteryjnych i zagrożeniem wystąpienia wielu objawów niepożądanych, włącznie ze wstrząsem kardiogenym, szczególnie u chorych predysponowanych [6]. Zjawisko to obserwowano u zwierząt i ludzi w przypadku niektórych antybiotyków [36]. Dotychczasowe badania przedkliniczne fagów nie potwierdzają jednak tej hipotezy [37].

Wyniki badań Ślopka i wsp. wskazują, że bakteriofagi nawet stosowane w postaci lizaków, rzadko powodują pojawienie się objawów niepożądanych [30]. Tylko u 3 ze 138 pacjentów (109 leczonych preparatami fagowymi doustnie i zewnętrznymi, 22 tylko doustnie, a 7 tylko zewnętrznymi) stwierdzono objawy niepożądane: u 2 wystąpiła nietolerancja po podaniu doustnym – objawiająca się głównie bólami wątroby między 3. a 5. dniem leczenia (prawdopodobnie spowodowanymi uwolnieniem endotoksyn). W jednym przypadku stosowania zewnętrznego stwierdzono miejscowe objawy uczuleniowe. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że na dużym materiale Kliniki Chirurgii Uniwersytetu Jagiellońskiego, nawet przy podawaniu parenteralnym fagów i to u dzieci, włączając niemowlęta, praktycznie nie obserwowano poważnych objawów ubocznych zarówno w obserwacji doraźnej, jak i odległej [27].

Bruttin i Brussow, którzy 15 zdrowym ochotnikom podawali doustnie oczyszczonego faga T4 (fag *E. coli*) w dawce 10^3 pfu/ml i 10^5 pfu/ml, również nie obserwowali częstszego występowania objawów niepożądanych, związanych z przyjmowaniem fagów (w tym wzrostu poziomu transaminaz) w porównaniu z *placebo* [38].

Nieznane są skutki odległego w czasie oddziaływania fagów na organizm i materiał genetyczny człowieka. Jednak warto podkreślić, że przez ponad 30 lat test powstawania przeciwciał w odpowiedzi na dożylnie podane fagi służy monitorowaniu odpowiedzi immunologicznej u pacjentów z niedoborem odporności (biorcy szpiku, zakażeni HIV, dzieci z niedoborami odporności w renomowanych centrach akademickich w USA) [39–41]. Co więcej, *Food and Drug Administration* po stwierdzeniu, że mimo oczyszczenia, niektóre szczepionki zawierają bakteriofagi oraz rozważeniu wszystkich za i przeciw, zgodziła się dopuścić do obrotu preparaty zawierające *unavoidable bacteriophage* [42]. Wydaje się zatem, że terapia fagowa jest w pełni bezpieczna i bardzo dobrze tolerowana, tym bardziej, że fagi te są naturalnym składnikiem naszego środowiska (woda, ziemia, pokarmy, są również obecne w przewodzie pokarmowym i ślinie).

W konkluzji należy stwierdzić, że terapia fagowa może być metodą bezpieczną i o wysokiej skuteczności u chorych z zakażeniami lekoopornymi. Wydarzenia ostatnich miesięcy w pełni to potwierdzają, jako że zaczyna się ją również stosować w Wielkiej Brytanii i USA [43, 44].

Praca częściowo finansowana z grantu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego /PBZ-MIN-007/P04/2003/

Piśmiennictwo

- Wenzel RP. The antibiotic pipeline-challenges, costs, and values. *N Engl J Med* 2004; 351: 523-526.
- Menichetti F. Current and emerging serious Gram-positive infections. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11 (S3): 22-28.
- Krawczyk B, Samet A, Bronk M, Hellmann A, Kur J. Emerging linezolid-resistant, vancomycin resistant *Enterococcus faecium* from a patient of a haematological unit in Poland. *Pol J Microbiol* 2004; 53: 193-196.
- Hryniewicz W. Antybiotykooporność – narastający problem kliniczny. *Terapia* 2004; 2: 53-56.
- Thiel K. Old dogma, new tricks – 21st Century phage therapy. *Nat Biotechnol* 2004; 22: 31-36.
- Dixon B. New dawn for phage therapy. *Lancet Infect Dis* 2004; 4: 186.
- Bradbury J. My enemy's enemy is my friend. Using phages to fight bacteria. *Lancet* 2004; 363: 624-625.
- Levin BR, Bull JJ. Population and evolutionary dynamics of phage therapy. *Nature Rev Microbiol*. 2004; 2: 166-173.
- Dąbrowska K, Świtala-Jeleń K, Weber-Dąbrowska B, Górski A. Bacteriophage penetration in vertebrates. *J Appl Microbiol* 2005; 98: 7-13.
- Keller R, Engley FB. Fate of bacteriophage particles introduced into mice by various routes. *Proc Soc Exp Biol Med* 1958; 98: 577-579.
- Merril CR, Biswas B, Carlton R, Jensen NC, Creed GJ, Zullo S, Adhya S. Long-circulating bacteriophage as antibacterial agents. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 3188-3192.
- Weber-Dąbrowska B, Dąbrowski M, Śłopek S. Studies on bacteriophage penetration in patients subjected to phage therapy. *Arch Immunol Ther Exp* 1987; 35: 563-568.
- Hildebrand GJ, Wolochow H. Translocation of bacteriophage across the intestinal wall of the rat. *Proc Soc Exp Biol Med* 1962; 109: 183-185.
- Carrera MR, Kaufmann GF, Mee JM, Meijler MM., Koob GF, Janda KD. Treating cocaine addiction with viruses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 10416-10421.
- Campbell A. The future of bacteriophage biology. *Nat Rev Gen* 2003; 4: 471-477.
- Smith HW, Huggins MB. Successful treatment of experimental *Escherichia coli* infections in mice using phage: its general superiority over antibiotics. *J Gen Microbiol* 1982; 128: 307-318.
- Payne RJ, Phil D, Jansen VA. Phage therapy: the peculiar kinetics of self-replicating pharmaceuticals. *Clin Pharmacol Ther* 2000; 68: 225-30.
- Matsuzaki S, Yasuda M, Nishikawa H, Kuroda M, Ujihara T, Shuin T, Shen Y, Jin Z, Fujimoto S, Nasimuzzaman MD, Wakiguchi H, Shigeyoshi S, Sugiura T, Koda S, Muraoka A, Imai S. Experimental protection of mice against lethal *Staphylococcus aureus* infection by novel bacteriophage ΦMR11. *J Inf Dis* 2003; 187: 613-624.
- Biswas B, Adhya S, Washart P, Paul B, Trostel AN, Powell B, Carlton R, Merrill CR. Bacteriophage therapy rescues mice bacteremic from a clinical isolate of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Infect Immun* 2002; 70: 204-210.
- Wang J, Hu B, Xu M, Yan Q, Liu S, Zhu X, Sun Z, Reed E, Ding L, Gong J, Li QQ, Hu J. Use of bacteriophage in the treatment of experimental animal bacteremia from imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Mol Med* 2006; 17: 309-317.
- Wang J, Hu B, Xu M, Yan Q, Liu S, Zhu X, Sun Z, Tao D, Ding L, Reed E, Gong J, Li QQ, Hu J. Therapeutic effectiveness of bacteriophages in the rescue of mice with extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* bacteremia. *Int J Mol Med* 2006; 17: 347-355.
- Huff WE, Huff GR, Rath NC, Balog JM, Donoghue AM. Therapeutic efficacy of bacteriophage and Baytril (Enrofloxacin) individually and in combination to treat colibacillosis in broilers. *Poultry Sci* 2004; 83: 1944-1947.
- Carlton R. Phage therapy: past history and future prospects. *Arch Immunol Ther Exp* 1999; 47: 267-274.
- O'Flaherty S, Ross RP, Meaney W, Fitzgerald GF, Elbreki MF, Coffey A. Potential of the polyvalent anti-*Staphylococcus* bacteriophage K for control of antibiotic-resistant staphylococci from hospitals. *Appl Environ Microbiol* 2005; 71: 1836-1842.
- Levin BR., Bull JJ. Population and evolutionary dynamics of phage therapy. *Nat Rev Microbiol* 2004; 2: 166-173.
- Sulakvelidze A, Alavidze Z, Morris JG Jr. Bacteriophage therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 649-659.
- Jasieński J. Próby zastosowania bakteriofagii w chirurgii. *Polska Gazeta Lekarska* 1927; 4: 67-73.
- Debattista J. Phage therapy: where East meets West. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2004; 2: 815-819.
- Hausler T. Bug killers. *Nature Medicine* 2006; 12: 600-601.
- Śłopek S, Durlakowa I, Weber-Dąbrowska B, Kucharewicz-Krukowska A, Dąbrowski M, Bisikiewicz R. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections. I. General evaluation of the results. *Arch Immunol Ther Exp* 1983; 31: 267-291.
- Boratyński J, Syper D, Weber-Dąbrowska B, Łusiak-Szelachowska M, Poźniak G, Górski A. Preparation of endotoxin-free bacteriophages. *Cell Mol Biol Letters* 2004; 9: 253-259.
- Śłopek S, Weber-Dąbrowska B, Dąbrowski M, Kucharewicz-Krukowska A. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections in the years 1981-1986. *Arch Immunol Ther Exp* 1987; 35: 569-583.
- Śłopek S, Kucharewicz-Krukowska A, Weber-Dąbrowska B, Dąbrowski M. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections. V. Evaluation of the results obtained in children. *Arch Immunol Ther Exp* 1985; 33: 241-259.
- Weber-Dąbrowska B, Mulczyk M, Górski A. Bacteriophage therapy of bacterial infections: an update of our Institute's experience. *Arch Immunol Ther Exp* 2000; 48: 547-551.
- Strój L, Weber-Dąbrowska B, Partyka K, Mulczyk M, Wójcik M. Skuteczne zastosowanie bakteriofagoterapii w ropnym zapaleniu opon mózgowo-rdzeniowych u noworodka. *Neurol Neurochir Pol* 1999; 33: 693-698.
- Lepper PM, Held TK, Schneider EM, Bolke E, Gerlach H, Trautmann M. Clinical implications of antibiotic-induced endotoxin release in septic shock. *Intensive Care Med* 2002; 28: 824-833.
- Soothill J, Hawkins C, Anggard E, Harper D. Therapeutic use of bacteriophages. *Lancet Infect Dis* 2004; 4: 544-555.
- Bruttin A, Brussow H. Human volunteers receiving *Escherichia coli* phage T4 orally: a safety test of phage therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 2874287-2874288.
- Ochs HD, Davis SD, Wedgwood RJ. Immunologic responses to bacteriophage phi-X 174 in immunodeficiency diseases. *J Clin Invest* 1971; 50: 2559-2568.
- Price TH, Ochs HD, Gershoni-Baruch R, Harlan JM, Etzioni A. In vivo neutrophil and lymphocyte function studies in a patient with leukocyte adhesion deficiency type II. *Blood* 1994; 84: 1635-1639.
- Fogelman I, Davey V, Ochs HD, Elashoff M, Feinberg MB, Mican J, Siegel JP, Sneller M, Lane H.C. Evaluation of CD4+ T cell function In vivo in HIV-infected patients as measured by bacteriophage phiX174 immunization. *J Infect Dis* 2000; 182: 435-441.
- Petricciani JC. An overview of viral and viral agents in cell culture systems. *Cytotechnology* 1998; 28: 49-52.
- Marza JA, Soothill JS, Boydell P, Collins TA. Multiplication of therapeutically administered bacteriophages in *Pseudomonas aeruginosa* infected patients. *Burns* 2006; 32: 644-646.
- Wolcott R, Fralick J, Burrows B. Bacteriophage in the treatment of chronic wounds. *Texas Tech Univ Health Sciences, Lubbock, TX, USA. 1st Texas/Evergreen Phage/Virus Genomics and Ecology Meeting, May 12-16 2006, Kingsville, TX. Abstracts, p. 11.*