

Czy bakteriofagi mogą być skutecznym i bezpiecznym lekiem na zakażenia spowodowane przez bakterie odporne na antybiotyki?

Filip Wojnarowski

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Biologii
fwojnarowski11@gmail.com

Tutor: dr hab. Robert Nawrot

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Biologii,
Instytut Biologii Eksperymentalnej, Zakład Wirusologii Molekularnej

Słowa kluczowe – bakteriofagi, wirusy bakteryjne, fagi, antybiotykooporność, terapia fagowa, endolizyny

Wprowadzenie

Odkrycie penicyliny w 1928 stało się przełomowym momentem w historii leczenia zakażeń bakteryjnych (Lee Ligon, 2004). Upowszechnienie antybiotyków na masową skalę znacznie polepszyło jakość i długość życia przeciętnego człowieka (Adedeji, 2016). Z roku na rok są one używane w coraz większej skali. Od 2000 do 2010 zanotowano 36% wzrost zużycia leków antybiotykowych w porównaniu z latami wcześniejszymi (Van Boeckel i in., 2014). Niestety ich znaczne nadużywanie przyczyniło się do wykształcenia przez bakterie oporności na antybiotyki, co znacząco zmniejszyło efektywność leczenia chorób o podłożu bakteryjnym. Do obecnej sytuacji przyczyniło się również stosowanie substancji antybiotycznych w hodowli zwierząt przeznaczonych na ubój. Antybiotyki są wykorzystywane w przemyśle spożywczym, aby zmniejszyć koszty związane z utrzymaniem zwierząt w odpowiedniej kondycji, w konsekwencji prowadząc do wykształcenia oporności. Dla przykładu w Chinach zaobserwowano obecność bakterii *E. coli* opornych na kolistynę w organizmie świni (Liu i in., 2017). W konsekwencji doprowadziło to do powstania tzw. „superbakterii” odpornych na większość znanych dotychczas antybiotyków. Przykładem takiego mikroorganizmu jest gronkowiec złocisty (*Staphylococcus aureus*), którego niektóre szczepy wykształciły zdolności pozwalające na przeżycie w obecności m.in. metycyliny czy wankomycyny. Oporność na antybiotyki staje się coraz poważniejszym problemem, który przy braku nowych rozwiązań, może być tragiczny w skutkach. Według brytyjskiego ekonomisty Jima O’Neilla w 2050 roku zakażenia bakteryjne mogą przyczynić się do śmierci około 10 milionów ludzi, tym samym znacznie przekraczając liczbę zgonów powodowanych przez nowotwory. Takie dane mogą przerażać, lecz również pobudzają do myślenia nad rozwiązaniem mogącym zapobiec takiej przyszłości.

Potencjalnym lekarstwem na zakażenia bakteryjne, któ-

rych nie można wyleczyć przy użyciu antybiotyków mogą być bakteriofagi. Są to wirusy atakujące bakterie oraz archeony. Obecnie ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses) wyróżnia 19 rodzin fagów. Bakteriofagi mogą różnić się między sobą strukturą genomu (jedno- lub dwuniciowy), rodzajem kwasu nukleinowego (DNA bądź RNA), obecnością lub brakiem otoczki, budową kapsydu (ogonkowe, polihedralne, nitkowate i pleomorficzne) (Ackerman, 2011). Każdego dnia przyczyniają się one do śmierci 15-40% bakterii obecnych w oceanach (Keen, 2015). Użycie bakteriofagów do leczenia zakażeń bakteryjnych określa się mianem terapii fagowej. Historia badań nad tym tematem sięga 1896 roku, kiedy to Ernest Hankin odkrył obecność czynnika o działaniu przeciwbakteryjnym przeciwko bakteriom *Vibrio cholerae* obecnym w wodach rzeki Ganges. Nie było natomiast dowodów na to, że czynnikiem tym mogły być wirusy. Dopiero w roku 1915 Frederick Twort oraz 1917 Félix d’Hérelle, niezależnie doszli do wniosku, że czynnikiem zaobserwowanym przez Hankina mogą być właśnie bakteriofagi. Bazując na wcześniejszych badaniach d’Hérelle wykorzystał fagi do leczenia chorych na czerwonkę bakteryjną, lecz odkrycie antybiotyków znacznie zmniejszyło zainteresowanie tym sposobem leczenia (Sandeep, 2006). Jednymi z pierwszych instytucji prowadzących badania związane z terapią fagową były Eliava Phage Therapy Center w Gruzji oraz Ośrodek Terapii Fagowej Centrum Medycznego Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN w Polsce. Ten rodzaj terapii jest jednak stosowany jedynie eksperymentalnie, kiedy inne metody leczenia zawodzą. Przykładem takiej sytuacji jest przypadek 76-letniego mężczyzny, którego śródpiersie zostało zakażone przez pałeczkę ropy błękitnej (*Pseudomonas aeruginosa*), bakterię oporną na karbapenemy. Początkowo leczenie pacjenta polegało na podawaniu ceftazydymu, proces ten trwał trzy lata. W 2015 roku uznano, że sposobem na wyleczenie mężczyzny może okazać się terapia fagowa. Strategia leczenia

polegała na wprowadzeniu koktajlu składającego się z fagów OMKO1 oraz ceftazydymu do przetoki śródpiersia pacjenta. Badania laboratoryjne pokazały bowiem, że bakterie, które wykształciły oporności przeciwko bakteriofagom OMKO1, stały się ponownie podatne na działanie antybiotyku. Dzień po podaniu koktajlu, mężczyzna wykazywał stabilne parametry życiowe. Ustabilizowanie warunków pozwoliło na przeprowadzenie operacji aorty i przetoki śródpiersia. Krótko po zabiegu zaprzestano podawania ceftazydymu, a pacjent nie wykazywał objawów nawrotu zakażenia (Chan i in., 2018).

Zalety terapii fagowej

Niska toksyczność bakteriofagów

Bakteriofagi są niezwykle powszechne w środowisku. Ich liczba na Ziemi znacznie przekracza liczbę wszystkich organizmów ją zamieszkujących. Co za tym idzie każdy człowiek ma z nimi do czynienia każdego dnia. Gdy dostaną się do organizmu, są z niego wydalane bądź niszczone. Pomimo, że fagi mogą powodować reakcje immunologiczne nie dochodzi do tego często (Navarro i Muniesa, 2017). W 2004 roku przeprowadzono eksperyment, w którym grupie wolontariuszy doustnie podawano bakteriofagi T4. Pod koniec doświadczenia uczestnikom pobrano osocze, w celu ustalenia czy podawanie fagów miało wpływ na skład krwi. W surowicy nie wykryto obecności fagów T4 ani przeciwciał skierowanych przeciwko bakteriofagom (Bruttin i Brüssow, 2005).

Głównymi budulcami bakteriofagów są białka oraz kwasy nukleinowe. Jeżeli fag zostanie rozłożony przez układ pokarmowy to w wyniku rozkładu nie powstaną składniki mogące w znacznym stopniu zaszkodzić organizmowi. Do uwolnienia szkodliwych substancji może dojść natomiast podczas lizy bakterii spowodowanej przez faga, lecz do podobnej sytuacji dochodzi przy antybiotykoterapii (Abedon i Thomas-Abedon, 2010).

Przed podaniem bakteriofagów pacjentowi, są one oczyszczane z endotoksyn, które mogłyby mieć negatywny wpływ na organizm. Poprzez procesy namnażania oraz usuwania szkodliwych substancji powstaje tzw. koktajl, który składa się z co najmniej dwóch szczepów bakteriofagów zdolnych do lizy określonego gatunku bakterii. W 2008 roku przeprowadzono badania mające na celu stworzenie skutecznego koktajlu skierowanego przeciwko *Pseudomonas aeruginosa* i *Staphylococcus aureus* obecnych w ranach poparzeniowych. W ich wyniku otrzymano koktajl BFC-1 składający się z soli fizjologicznej oraz zawieszonych w niej trzech szczepów bakteriofagów: PNM, 14/1 oraz ISP, które wykazywały największą efektywność w niszczeniu wyżej wymienionych populacji bakterii. Po jego otrzymaniu oraz oczyszczeniu, zbadane zostały cytotoksyczność, pH, pirogenicność, sterylność, stabilność w 4°C. Próbkę zostały również poddane analizie przy pomocy transmisyjnego mikroskopu elektronowego. Badania zostały przeprowadzone w celu ustalenia czy BFC-1 może mieć negatywny wpływ na organizm. Żaden z badanych czynników nie uległ zmianie, która mogłaby mieć negatywny wpływ na organizm (Merabishvili i in., 2009). Otrzymane wyniki dowiodły,

że nie ma podstaw, aby bakteriofagi miały negatywny wpływ na organizm człowieka, ponieważ wszystkie otrzymane parametry znajdowały się w granicach normy.

Niskie ryzyko wpływu bakteriofagów na naturalną florę bakteryjną

Bakteriofagi są wyspecjalizowane co oznacza, że atakują jedynie określone gatunki lub szczepy bakterii, więc ryzyko niekorzystnych zmian w składzie naturalnej flory bakteryjnej organizmu jest bardzo niskie. Dla porównania antybiotyki powodują jej wyjałowienie, co ma negatywny wpływ na metabolizm (Węgielska i Suliburska, 2016). Głównym celem wcześniej wspomnianych badań Anne Bruttin i Haralda Brüssow było ustalenie czy bakteriofagi T4 mają wpływ na pałeczki okrężnicy (*Escherichia coli*) obecne w naturalnej florze jelitowej. Eksperyment polegał na podaniu doustnie grupie 15 dorosłych wolontariuszy roztworów fagów o dwóch różnych stężeniach oraz placebo. Następnie badano próbki kału na obecność bakteriofagów oraz *E. coli*. Podanie bakteriofagów nie miało wpływu na zmianę liczby bakterii w stolcu osób badanych. W trakcie trwania eksperymentu u kilku badanych doszło do problemów gastrycznych, lecz oceniono, że nie były one bezpośrednio powiązane z podaniem fagów. Pomimo tego, że fag T4 ma szeroki zakres gospodarza, w przytoczonych badaniach na 42 szczepach *E.coli* tylko 2 uległy lizie. Zaaplikowanie fagów nie wpłynęło więc negatywnie na stan wolontariuszy (Bruttin i Brüssow, 2005).

Możliwość różnego sposobu podania bakteriofagów

Preparaty zawierające bakteriofagi mogą być podawane różnymi sposobami, dzięki czemu możliwe jest zastosowanie ich bezpośrednio w ognisku zakażenia (Merabishvili i in., 2009). Jedną z form podawania fagów pacjentowi jest bezpośrednie naniesienie na skórę koktajlu zawierającego bakteriofagi w postaci sprayu. Taki sposób został zastosowany we wcześniej wspomnianych badaniach związanych z leczeniem zakażeń bakteryjnych w ranach oparzeniowych. Objętość 3 ml otrzymanego koktajlu BFC-1 została umieszczona w strzykawce, lecz igła została zastąpiona sterylną dyszą rozpylającą. Następnie preparat został rozpylony na zakażoną ranę oparzeniową. BFC-1 został użyty podczas leczenia siedmiu innych pacjentów prowadząc do całkowitego wyleczenia ran, podczas terapii nie zauważono żadnych niekorzystnych zmian (Merabishvili i in., 2009).

W badaniach mających na celu ustalenie wpływu bakteriofagów T4 na bakterie *E. coli* tworzące naturalną florę jelitową, fagi były podawane doustnie w formie roztworów wodnych. Sposób ten mógłby być stosowany w celu leczenia zakażeń układu pokarmowego, ponieważ w trakcie eksperymentu u wolontariuszy przyjmujących fagi zanotowano ich obecność w kale. W związku z tym musiały one przejść przez cały układ pokarmowy, zatem w razie ewentualnego zakażenia, w którymś z jego odcinków mogłyby one zainfekować obecne tam bakterie. Aby zwiększyć efektywność tej metody zalecane jest podawanie fagów wraz ze środkami alkalizującymi, w celu zmniejszenia kwasowości treści żołądkowej, ponieważ niskie pH może źle wpływać na stabilność bakteriofagów. W badaniach ustalono również, że niewielka ilość fagów trafia do układu krwionośnego, lecz są one

z niego szybko usuwane, więc ten sposób podania nie byłby wydajny podczas leczenia zakażeń układu krwionośnego (Bruttin i Brüssow, 2005).

Fagi można również poddać liofilizacji, co daje możliwość łatwego uformowania z nich tabletek je zawierających (Bunting, 1997). Niektóre gatunki bakteriofagów w takiej postaci wykazują stabilność w temperaturze do 55°C oraz mogą być przechowywane do 14 miesięcy. Produkcja preparatów zawierających fagi w takiej formie była aktywna w ZSRR w latach 80. Na terenie obecnej Gruzji wytwarzane były tabletki skierowane przeciwko bakteriom wywołującym czerwonkę, dur brzuszny oraz salmonellę (Bunting, 1997).

Bakteriofagi można również podawać w formie kremów np. przeciw trądzikowi. Aby otrzymać taki preparat, przeprowadzono badania polegające na pobraniu dziesięciu fagów PAC atakujących bakterie *Cutibacterium acnes* (wcześniej znanych pod nazwą *Propionibacterium acnes*) wywołujących trądzik. Otrzymany krem cetomakrogolowy zachowywał właściwości bakteriobójcze do 90 dni przy przechowywaniu w 4°C. Badania genomów fagów wykazały, że nie zawierają one bakteryjnych czynników wirulencji, dzięki czemu mogłyby zostać użyte komercyjnie (Brown i in., 2016).

Przy zakażeniach zewnętrznych koktajle zawierające bakteriofagi mogą być stosowane miejscowo, bezpośrednio na zakażonej ranie. W takim przypadku na zakażony obszar nakłada się specjalną siatkę, a następnie jest ona polewana koktajlem fagowym. Ten sposób leczenia został w Eliava Phage Therapy Center wykorzystany w przypadku pacjenta Marca Guillonau cierpiącego na zespół Nethertona. Z powodu choroby jego skóra ciągle się złuszczała, przez co był on bardzo podatny na zakażenia bakteryjne mogące prowadzić do sepsy. U pacjenta dochodziło do licznych epizodów sepsy, co jest nietypowym przypadkiem. Niestety antybiotykoterapia okazała się być nieskuteczna, ponieważ antybiotyki w krótkim czasie przestawały działać. Terapią ostatniej szansy dla Marca okazała się być terapia fagowa. Polegała ona na nanoszeniu koktajlu na skórę pacjenta. Po podjęciu leczenia nie dochodziło już do sepsy, a ogólny stan zdrowia mężczyzny znacznie się poprawił (Aaronson i Menglers, 2017).

Możliwość synergistycznego stosowania preparatów zawierających bakteriofagi oraz antybiotyków

Bakterie mają zdolność do wykształcenia oporności zarówno na antybiotyki jak i na bakteriofagi (Chan i in., 2018). Gdy bakteria wykształca mechanizm chroniący ją przed działaniem ściśle określonego antybiotyku, lek ten staje się bezużyteczny. Natomiast w przypadku oporności na fagi, wirus może przezwyciężyć mechanizm obronny. Jest to związane z tym, że bakteriofagi mutują. Wynikiem mutacji może być zmiana struktury włókien odpowiedzialnych za przytwierdzenie do ściany komórkowej bakterii, tak aby odpowiadały one zmutowanym receptorom lub zmiana materiału genetycznego w taki sposób, aby endonukleazy bakterii nie były w stanie go pociąć. Jeżeli fag okaże się być mało efektywny przeciwko wykształconym przez dany gatunek mechanizmom, możliwe jest znalezienie innego bakteriofaga, który wykazuje większą efektywność (Carlton, 1999).

Wspomniane wcześniej badania nad fagiem OMKO1 pokazały, że w niektórych przypadkach podanie bakteriofagów wraz z antybiotykami może okazać się bardzo korzystne. Okazało się bowiem, że bakterie, które wykształciły odporność na fagi stały się znacznie bardziej podatne na działanie antybiotyków na które były wcześniej odporne. Natomiast jeżeli bakteria stała się odporna na antybiotyki, stała się jednocześnie znacznie bardziej podatna na działanie bakteriofagów. Wspomniane badania były przeprowadzone jedynie na jednym szczepie *P. aeruginosa* w warunkach *in vitro* oraz na jednym pacjencie, więc nie wiadomo czy podobnie jest u innych bakterii. Obserwacja ta jest bardzo obiecująca, wymaga jednak dalszych badań (Chan i in., 2018).

Produkcja endolizyn

Niektóre bakteriofagi w ostatnim etapie cyklu litycznego produkują pre-endolizyny, które następnie są przekształcane w endolizyny, czyli enzymy odpowiedzialne za degradację ściany komórkowej bakterii, dzięki którym fagi zostają uwalniane z komórki żywiciela. Dzieli się je na pięć klas:

- N-acetylmuraminidazy
- endo-β-N-acetyloglukozaminidazy
- lityczne transglikozylazy
- endopeptydazy
- amidazy N-acetylmuramylo-L-alaninowe

Zgodnie z podaną kolejnością trzy pierwsze enzymy odcinają resztę cukrową peptydoglikanu, następnie odcinają jednostki peptydowe, a ostatnie przecinają wiązanie amidowe między L-alaniną, a resztą N-acetylmuramyłową. W związku z tym, że endolizyny są grupą enzymów nie należących do tego samego typu, więc przebieg lizy może różnić się u poszczególnych bakterii. Wymienione enzymy mogą mieć potencjalne wykorzystanie w leczeniu zakażeń o podłożu bakteryjnym, ponieważ wykazują aktywność również od zewnętrznej strony ściany komórkowej, lecz jedynie w przypadku bakterii Gram-ujemnych (Brzozowska i in., 2011). Endolizyny wykazują podobną specyficzność działania co bakteriofagi, więc ryzyko negatywnego wpływu na naturalną florę bakteryjną jest niskie.

Endolizyny i antybiotyki mogą być stosowane synergistycznie, tym samym zwiększając efektywność terapii. Lizyna Cpl-1 połączona z gentamycyną jest bardziej efektywna przeciwko pneumokokom ze zmniejszającym się minimalnym stężeniem hamującym penicyliny natomiast w połączeniu z penicyliną wykazuje dużą efektywność przeciwko szczepom opornym na penicylinę. Pokazuje to, że endolizyny w połączeniu z antybiotykami mogą niwelować działanie mechanizmów wykształconych przez odporne na antybiotyki bakterie. Niestety w organizmie lizyny wykazują aktywność maksymalnie do 20 minut. Po upływie tego czasu są one niszczone przez układ odpornościowy (Fischetti, 2010). Mimo to dają one dużą nadzieję w walce z antybiotykoopornością.

Wady terapii fagowej

Wąski zakres aktywności

Fakt związany z tym, że określone fagi atakują jedynie ściśle określone gatunki lub szczepy bakterii może stanowić poważną przeszkodę dla terapii fagowej (Loc-Carrillo i Abedon, 2011). W przypadku choroby bakte-

ryjnej należałoby najpierw dokładnie zdiagnozować jaki gatunek bakterii wywołał zakażenie, a następnie dobrać faga, który wykazywałby największą efektywność w niszczeniu komórek bakteryjnych danego gatunku. Niestety, istnieje ryzyko, że nie znaleziono jeszcze faga, który byłby dobrym kandydatem do leczenia określonego szczepu bakterii. Wiąże się to głównie z tym, że badania nad bakteriofagami przeznaczonymi do terapii fagowej są prowadzone od niedawna i w nielicznych miejscach na świecie. W latach 90. na terenie obecnej Gruzji znajdowała się biblioteka bakteriofagów wykazujących dużą efektywność w leczeniu chorób bakteryjnych. Niestety wojna domowa związana z rozpadem ZSRR przyczyniła się do przerw w dostawach prądu, co w konsekwencji doprowadziło do zniszczenia większości okazów bakteriofagów przechowywanych w bibliotece (Bunting, 1997). Aby zwiększyć efektywność terapii można stosować koktajle składające się z różnych gatunków fagów, lecz nawet wtedy nie wykazują one tak szerokiego spektrum aktywności jak antybiotyki (Loc-Carrillo i Abedon, 2011).

Brak ustalonych optymalnych warunków przechowywania bakteriofagów

Bakteriofagi różnią się w budowie w zależności od rodzaju oraz żywiciela. Wyróżniamy cztery różne typy fagów w zależności od budowy kapsydu: ogonkowe, polihedralne, nitkowate oraz pleomorficzne. Konsekwencją ich budowy jest różny zakres tolerancji na zmiany czynników środowiska takich jak temperatura, zasolenie czy pH. Czynniki te mogą negatywnie wpływać na strukturę faga prowadząc do uszkodzeń i zmniejszenia żywotności (Jończyk i in., 2011). Dla przykładu chloroform dezaktywuje 1/3 ogoniastych bakteriofagów, wszystkie fagi nitkowate i zawierające tłuszcze. Temperatura w jakiej fagi są najbardziej stabilne może różnić się w zależności od szczepu. Najpowszechniej są one przechowywane w temperaturach 4°C, -80°C lub -196°C. Pomimo tego niskie temperatury nie dają gwarancji na to, że bakteriofagi zachowają swoją aktywność. Podczas zamrażania należy używać odpowiednich krioprotektantów, aby zapobiec uszkodzeniu faga przez powstające kryształy lodu (Ackerman i in., 2004). Różna tolerancja na czynniki środowiska stanowi również poważny problem w trakcie badań, ponieważ losowe zdarzenie może doprowadzić do zniszczenia całej hodowli, tym samym opóźniając otrzymanie wyników. Dlatego w celu ułatwienia terapii fagowej, należy również prowadzić badania, które pozwolą na ustalenie optymalnych warunków do przechowywania bakteriofagów.

Różna aktywność w zależności od bakteriofaga

Podobnie jak w przypadku różnic w budowie, bakteriofagi różnią się również sposobami działania. Jeden szczep może wykazywać większą efektywność w niszczeniu bakterii niż inny, lub może mieć szerszy zakres żywicieli, dzięki czemu jest lepszym kandydatem do terapii fagowej. Bakteriofagi mogą przechodzić przez dwa rodzaje cykli życiowych tj. cykl lityczny lub lizogenny (Ackerman i in., 2004). Pierwszy polega na wykorzystaniu komórki bakterii do tworzenia elementów składowych faga, które następnie łączą się tworząc nowe bakteriofagi, które, aby opuścić komórkę muszą doprowadzić do jej rozpadu. W drugim materiał genetyczny

faga zostaje wbudowany w DNA gospodarza w wyniku czego powstaje profag (Canchaya i in., 2003). Nieczynna postać bakteriofaga (profag) przechodzi cykl lityczny dopiero w odpowiednich warunkach np. przy wystarczająco dużym zagęszczeniu komórek bakteryjnych. W związku tym fagi, które przeprowadzają cykl lityczny są bardziej pożądane w terapii fagowej, niż te, które przeprowadzają cykl lizogenny. Co więcej w genomie fagów lizogennych (transdukujących) mogą znajdować się geny korzystne dla bakterii kodujące np. bakteryjne czynniki wirulencji. Kiedy dojdzie do infekcji, gen zawierający tę informację zostanie wbudowany w DNA gospodarza, tym samym przekazując mu zdolność do syntezy toksyn (Brüssow i in., 2004). Ustalenie przez jaki cykl życiowy przechodzi dany fag, wymaga badań, co wiąże się z potrzebą zainwestowania w nie czasu oraz środków (Woźnica i in., 2015).

Kwestie ekonomiczne

Aby zaprojektować terapię skierowaną przeciwko ściśle określonej bakterii należy wybrać faga, który będzie wykazywał największą efektywność. Przed jego zastosowaniem należałoby również sekwencjonować jego materiał genetyczny. Poszerzenie wiedzy na temat jego funkcjonowania pozwoliłoby na jak najlepsze zoptymalizowanie terapii, żeby przynosiła jak najlepsze efekty. Wiąże się to z dużym nakładem niezbędnych środków finansowych oraz pracy. Przeprowadzenie tego typu badań jest niezbędne, ponieważ koncerny farmaceutyczne niechętnie zainwestowałyby pieniądze w terapię, która nie uzyskała oficjalnej zgody lub nie zweryfikowano, czy jest w pełni bezpieczna dla zdrowia.

Przez długi czas bakteriofagi nie były wykorzystywane w leczeniu na dużą skalę w związku z trudnościami w zaprojektowaniu terapii, która byłaby powtarzalna i efektywna dla większej liczby pacjentów. Nawet dziś jest to dużym problemem, ale postępujące badania nad terapią fagową z pewnością ułatwią wykorzystanie fagów w medycynie. W przeszłości problemem było również to, że preparaty je zawierające powodowały chorobę lub śmierć pacjentów. Wiązało się to z niedokładnymi technikami tworzenia koktajli fagowych, które nie były odpowiednio oczyszczane z endotoksyn (Carlton, 1999).

Innym powodem małej liczby badań jest fakt związany z tym, że po odkryciu antybiotyków zainteresowanie bakteriofagami w kontekście terapii znacznie spadło. Istnienie skutecznego leku przeciwko bakteriom sprawiło, że nie było potrzeby poszukiwania innych rozwiązań. Co więcej początkowe badania związane z bakteriofagami były przeprowadzane w ZSSR na terenie obecnej Gruzji. Napięcie istniejące pomiędzy zachodem a wschodem sprawiło, że artykuły napisane w języku rosyjskim nie były chętnie czytane w zachodnich państwach Europy i USA (Bunting, 1997).

Zastosowanie w rolnictwie

Sektorem, w którym bakteriofagi również mogłyby być skutecznie stosowane do zwalczania bakterii, jest rolnictwo. Wzrost antybiotykooporności dotyczy nie tylko bakterii atakujących ludzi, ale też tych atakujących rośliny. Braku skutecznej obrony przeciwko zakażeniom roślin, może doprowadzić do znacznego spadku produkcji żywności. Co więcej

obecnie wykorzystywane antybiotyki mogą mieć negatywny wpływ na ilość oraz jakość plonów. Pożywienie, do produkcji którego wykorzystywane były antybiotyki, jest również mniej przychylnie przyjmowane przez konsumentów. Dlatego wykorzystanie fagów mogłoby okazać się dobrym rozwiązaniem (Svircev i in., 2018).

Badania nad wykorzystaniem bakteriofagów do leczenia zakażonych roślin sięgają roku 1922, kiedy to zaobserwowano, że filtrat zawierający fagi zahamował wzrost bakterii powodujących bakteryjną mokrą zgniliznę kapusty (Mallmann i in., 1924). Od tamtego czasu przeprowadzone zostały badania pokazujące skuteczność bakteriofagów przeciwko bakteriom atakującym m.in. ziemniaki, kukurydzę, winogrona, jabłka, gruszki oraz cytrusy (Svircev i in., 2018). Niestety podczas aplikacji w rolnictwie możliwym jest napotkanie podobnych przeszkód jak w przypadku wykorzystania fagów w medycynie.

Podsumowanie

Moim zdaniem terapia fagowa skrywa ogromny potencjał i jest idealnym rozwiązaniem na kryzys antybiotykooporności. Dotychczasowe badania laboratoryjne dowodzą jej skuteczności w niszczeniu komórek bakterii takich jak *E. coli*, *S. aureus* czy *P. aeruginosa*. Wprowadzenie skutecznej terapii przeciwko każdej groźnej chorobie bakteryjnej na masową skalę będzie czasochłonne, lecz z pewnością jest warte zainwestowania czasu, ponieważ w przyszłości może zapobiec niebezpiecznemu trendowi, kiedy dotychczas blahe zakażenia zaczną być śmiertelne.

Bakteriofagi stwarzają wiele nowych możliwości na walkę z bakteriami opornymi na antybiotyki. Począwszy od preparatów zawierających żywe fagi, poprzez ich synergistyczne stosowanie z antybiotykami, kończąc na endolizynach. Każdy ze wspomnianych sposobów mógłby być skutecznie wykorzystany w profilaktyce chorób o podłożu bakteryjnym. Być może w przyszłości bakteriofagi będą lekiem równie powszechnym jak antybiotyki. Jeżeli do tego dojdzie, konieczne będzie stosowanie fagów z rozważą, aby nie doprowadzić do podobnego kryzysu jak ten dotyczący wzrastającej szybko antybiotykooporności bakterii.

Literatura

Aaronson X., Menglers B., 2017. *The Virus That Kills Drug-Resistant Superbugs* <https://www.youtube.com/watch?v=aVTO7Nq2SM&t>

Abedon S. T., Thomas-Abedon C., 2010. Phage Therapy Pharmacology. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 11 (1), 28-47

Ackerman H. W., Moineau S., Tremblay D., 2004. Long-term bacteriophage preservation. *WFCC Newsletter* 38, 35-40

Ackerman H. W., 2011. Bacteriophage taxonomy. *Microbiology Australia*, 90-94

Adedeji W.A., 2016. The treasure called antibiotics. *Annals of Ibadan Postgraduate Medicine*, 14, (2), 56-57

Bunting J., 1997. BBC Horizon: Phage - The Virus that Cures. <https://archive.org/details/BBCHorizonS1997e13TheVirusThatCures>

Brown T. L., Petrovski S., Dyson Z. A., Seviour R., Tucci J., 2016. The Formulation of Bacteriophage in a Semi Solid Preparation for Control of *Propionibacterium acnes* Growth. *PLOS ONE*, 11, (3) <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151184>

Brüssow H., Canchaya C., Hardt W. D., 2004. Phages and the Evolution of Bacterial Pathogens: from Genomic Rearrangements to Lysogenic Conversion. *Microbiology and molecular biology reviews*, 68, (3), 560-602

Bruttin A., Brüssow H., 2005. Human Volunteers Receiving Escherichia coli Phage T4 Orally: a Safety Test of Phage Therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49 (7), 2874-2878. DOI: 10.1128/AAC.49.7.2874-2878.2005

Brzozowska E., Bazan J., Gamian A., 2011. Funkcje białek bakteriofagowych. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 65, 167-176. DOI: 10.5604/17322693.936090

Canchaya C., Proux C., Fournous G., Bruttin A., Brüssow H., 2003. Prophage genomics. *Microbiology and molecular biology reviews*, 67, (2), 238-76

Carlton R. M., 1999. Phage Therapy: Past History and Future Prospects. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 47, 267-274

Chan B. K., Turner P. E., Kim S., Hamid R., Mojibian H. R., Eleftheriades J. A., Narayan D., 2018. Phage treatment of an aortic graft infected with *Pseudomonas aeruginosa*. *Evolution, Medicine, and Public Health*, 2018 (1), 60-66. DOI: 10.1093/emph/eoy005

Fischetti V. A., 2010. Bacteriophage endolysins: A novel anti-infective to control Gram-positive pathogens. *Int. J. Med. Microbiol* 300(6), 357-362. DOI: 10.1016/j.ijmm.2010.04.002

Jończyk E., Kłak M., Międzybrodzki R., Górski A., 2011. The influence of external factors on bacteriophages—review. *Folia Microbiologica*, 56 (3), 191-200. DOI: 10.1007/s12223-011-0039-8

Keen E.C., 2015. A century of phage research: Bacteriophages and the shaping of modern biology. *Bioessays*, 37, (1), 6-9

Lee Ligon B., 2004. Penicillin: its discovery and early development. *Seminars in Pediatric Infectious Disease*, 15 (1), 52-57

Liu Y. Y., Wang Y., Walsh T. R., Yi L. X., Zhang R., Spencer J., Tian G., Dong B., Huang X., Yu L. F., Gu D., Ren H., Chen X., Ly L., He D., Zhou H., Liang Z., Liu J. H., 2015. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet Infectious Diseases*, 16 (2), 161-168. DOI: 10.1016/S1473-3099(15)00424-7

Loc-Carrillo C., Abedon S. T., 2011. Pros and cons of phage therapy. *Bacteriophage* 1 (2), 111-114. DOI: 10.4161/bact.1.2.14590

Mallmann W. L., Hemstreet C., 1924. Isolation of an inhibitory substance from plants. *Journal of Agricultural Research*, XXVIII, 6

Merabishvili M., Pirnay J. P., Verbeken G., Chanishvili N., Tediashvili M., Lashkhi N., Glonti T., Krylov V., Mast J., Van Parys L., Lavigne R., Volckaert G., Mattheus W., Verween G., De Corte P., Rose T., Jennes S., Zizi M., De Vos D., Vaneechoutte M., 2009. Quality-Controlled Small-Scale Production of a Well-Defined Bacteriophage Cocktail for Use in Human Clinical Trials. *PLoS ONE*, 4 (3), e4944. DOI: 10.1371/journal.pone.000494

Navarro F., Muniesa M., 2017. Phages in the Human Body. *Frontiers in microbiology*, 8: 566, DOI: 10.3389/fmicb.2017.00566. eCollection 2017.

Sandeep K., 2006. Bacteriophage precision drug against bacterial infections. *Current Science*, 90, (5), 631-633

Svircev A., Roach D., Castle A., 2018. Farming the Future with Bacteriophages in Agriculture. *MDPI; Viruses* 2018, 10, (5), 218 <https://doi.org/10.3390/v10050218>

Van Boeckel T. P., Gandra S., Ashok A., Caudron Q., Grenfell B. T., Levin S. A., Laxminarayan R., 2014. Global antibiotic consumption 2000 to 2010: an analysis of national pharmaceutical sales data. *The Lancet Infectious Diseases*, 14(8), 742-750. DOI: 10.1016/S1473-3099(14)70780-7

Węgielska I., Suliburska J., 2016. Wpływ leków na mikroflorę jelitową. *Forum Zaburzeń Metabolicznych*, 7, (1), 1-7

Woźnica W. M., Bigos J., Łobocka M. B., 2015. Lysis of bacterial cells in the process of bacteriophage release – canonical and newly discovered mechanisms. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 69, 114-126. DOI: 10.5604/01.3001.0009.6484

Notatka o Autorze

Student pierwszego roku studiów licencjackich na kierunku biotechnologia W/B UAM w Poznaniu. Zainteresowany potencjalnym wykorzystaniem biotechnologii w medycynie. Laureat konkursu BESTStudentGRANT w ramach którego realizuje projekt związany z bakteriofagami.