

АНТИБАКТЕРІАЛЬНА КОМПОЗИЦІЯ У ВИГЛЯДІ СУПОЗИТОРІЮ НА ОСНОВІ БАКТЕРІОФАГІВ

Свердел Л.Р.

Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут», м.Харків, Україна, sverdellubov@gmail.com

Вперше можливість використання бактеріофагів у профілактиці та лікуванні інфекційних захворювань була продемонстрована у 1917 р., коли серед учених-мікробіологів поширилася сенсаційна новина, що Фелікс Д'Ерелль відкрив віруси, що «пожирають бактерії», і на їх основі йому вдалося розробити препарати, що заразилися дизентерією.

Бактеріофаги – це віруси, що характеризуються специфічною здатністю до вибіркового інфікування бактеріальних клітин, з наступним лізисом клітини-господаря (вірулентні фаги) або утворенням лізогенів (помірні фаги).

Розвиток нових уявлень наприкінці ХХ – початку ХХІ століття як про молекулярну біологію, так і про екологічні взаємини бактеріофагів та їх господарів, а також дедалі ширше поширення в біосфері антибіотико-резистентних мікроорганізмів, що актуалізували своєрідне друге народження вірусів бактерій [1].

Поліпшення якості медичної допомоги інфекційним хворим, а також перехід на споживання екологічно чистих необроблених антибактеріальними засобами продуктів харчування передбачає пошук нових та відродження відомих раніше форм та методів лікування інфекційних захворювань.

Численні дослідження, проведені вітчизняними та зарубіжними вченими, підтверджують можливість використання бактеріофагів як природних антимікробних агентів для боротьби з бактеріальними інфекціями у людей, тварин та сільськогосподарських культур, у тому числі викликаних антибіотико-резистентними штамми.

Переваги бактеріофагів перед антибіотиками досить очевидні і полягають у наступному:

- здатні знищувати бактерії, стійкі до антибіотиків;
- у титрі, що не перевищує у готовій лікарській формі 10^{10} БОЕ/мл, не викликають побічних ефектів (реакція Яриша – Герксгеймера);
- завдяки вузькій видовій специфічності, що не пригнічують зростання нормофлори;
- поєднуються з іншими лікарськими препаратами;
- мають імуностимулюючу дію [2].

Таким чином завданням цього винаходу є розробка супозиторної лікарської форми на основі комбінованої рідкої субстанції щонайменше трьох бактеріофагів з вихідним високим титром фаголізату від 2×10^8 БОЕ/супозиторій кожного штаму, що знижується на кінець терміну придатності препарату до рівня не нижче 1×10^8 БОЕ/ супозиторій [3].

Для досягнення поставленої задачі за запатентованою технологією з вирощуванням фаголізату на щільному живильному середовищі були отримані високоактивні стерильні фільтрати фаголізатів, підібрані допоміжні компоненти і сконструйована готова лікарська форма – супозиторії, що володіють вихідною високою специфічною антибактеріальною активністю. Підтверджено під час фармакокінетичних випробувань на кроликах.

Характеристика біологічного продуценту таблиця 1 [4].

Таблиця 1 – Фенотипова та молекулярно-генетична характеристика штамів бактеріофагів.

| Фаг | V18 | SE40 | PA5 |
|--|--|--|--|
| Бактерія-господар | <i>E.coli</i> | <i>S. Enteritidis</i> | <i>P. aeruginosa</i> |
| Джерело та місце виділення | Стічні води корівника Грунт Стічні води | Стічні води корівника Грунт Стічні води | Стічні води корівника Грунт Стічні води |
| Спектр літичної активності (%/штами бактерій) | 100% | 85% | 76% |
| Відносини до хлороформу | Стійкий | Стійкий | Стійкий |
| Температура стійкості | 60°C | 80°C | 60°C |
| Стійкість до рН середовища | 7,0-9,6 | 5,2-9,6 | 7,0-9,6 |
| Врожайність (титр), БОЄ/мл | $10^{10} - 10^{11}$ | $10^{11} - 10^{12}$ | $10^{10} - 10^{11}$ |
| Розмір ДНК, тпн | 129 | 29 | 66 |
| Сімейство (таксономічний стан) | <i>Myoviridae</i> | <i>Siphoviridae</i> | <i>Myoviridae</i> |
| Довга фага (голівка, хвіст та базальна мембрана), нм | 146 | 122 | 143 |
| Діаметр (найбільша ширина) голівки, нм | 49 | 35 | 52 |

Для реалізації поставленої мети пропонується антибактеріальна композиція у вигляді супозиторію, що містить рідку субстанцію бактеріофагів, що включає, щонайменше, три бактеріофаги з титром не менше 2×10^8 БОЄ/супозиторій, супозиторну основу, що включає вітепсол або твердий жир типу А, а також твін (полісорбат)-80 при наступному співвідношенні компонентів на 1 супозиторій, мас. % (таб. 2) [5]:

Таблиця 2 – співвідношення компонентів на 1 супозиторій.

| | |
|---------------------------------|-----------|
| Рідка субстанція бактеріофагів | 13,3 % |
| Вітепсол або твердий жир типу А | 82–84 % |
| Твін (полісорбат)-80 | 2,7–4,7 % |

Було розроблено алгоритм створення нового препарату на основі бактеріофагів, що включає наступні етапи:

1. Видова ідентифікація патогенних мікроорганізмів – антибіотико-резистентних збудників інфекційних захворювань

2. Виділення та селекція вірулентних штамів бактеріофагів за спектром їх специфічної політичної активності проти патогенних бактерій-мішеней

3. Підтвердження відсутності помірних фагів, інтегрованих у бактеріальні клітини-господарі за допомогою тестів з мітоміцином С, УФО тощо.

4. Отримання бактеріофагів у високому титрі на щільному поживному середовищі, стерилізуюча фільтрація та очищення фаголізатів від ендо- та екзотоксинів за методом афінної хроматографії

5. Визначення морфологічної структури фагової частки з урахуванням електронного мікроскопіювання

6. Підтвердження відсутності небажаних генів у ДНК бактеріофагів (за допомогою ПЛР), повногеномне секвенування фагової ДНК та біоінформаційний аналіз

7. Підтвердження відсутності у фаголізатах бактеріальних токсинів (за допомогою ІФА)

8. Підтвердження стабільності бактеріофагів під впливом агресивних факторів довкілля (температури, рН, хлороформу та ін.)

9. Створення готової форми коктейлю бактеріофагів

10. Оцінка безпеки та ефективності бактеріофагів у доклінічних випробуваннях на лабораторних тваринах (гостра та хронічна токсичність, фармакокінетика, специфічна ефективність)

11. Оцінка безпеки та ефективності у клінічних випробуваннях

12. Державна реєстрація нового лікарського препарату або введення «адаптованих» штамів бактеріофагів у вже зареєстровані лікарські засоби [6].

Пропонується також спосіб приготування наведеної вище антибактеріальної композиції, в якому спочатку розплавлений при температурі 43–50 °С вітепсол або твердий жир типу А вводять твін (полісорбат)-80. Потім отриману основу охолоджують до температури 40–42 °С при перемішуванні вводять у неї рідку субстанцію бактеріофагів [7].

Приклад. Супозиторії для профілактики та лікування інфекцій, що передаються харчовим шляхом (*Food-borne infections*).

Склад на один супозиторій масою 1,5 г: рідка субстанція бактеріофагів у кількості 0,2 г, що складається з трьох штамів фагів, листериозного Lm2 – 2×10^8 БОЕ/супп, ешеріхіозного V18 – $6,0 \times 10^8$ БОЕ/супп та саль – 1×10^9 БОЕ/супп, Вітепсол W 35 – 1,23, Твін (полісорбат)-80 – 0,07г.

Технологія виготовлення супозиторіїв полягає в наступному: в розплавлений при температурі 43–47 градусів вітепсол, вводять твін (полісорбат)-80, перемішують, основу охолоджують до температури 40 градусів і поступово при перемішуванні вводять рідку субстанцію

бактеріофагів, потім супозиторії , охолоджують, запаюють, нарізають і готові супозиторії пакують [8].

В результаті проведеного аналізу, представлений опис отримання рідкої субстанції бактеріофагів як АФС для супозиторної лікарської форми в титрі 10^{10} БОЕ/мл, що є вихідною достатньою кількістю фагових частинок з точки зору подальшого визначення специфічної антибактеріальної активності бактеріофагів у готовій лікарській формі. Так, в оптимальному за технологією і фізичними показниками заявляється склад мінімальна концентрація бактеріофага становить 2×10^8 БОЕ/супп, що при порівнянні з зареєстрованими пероральними засобами на основі бактеріофагів, дозволяє зробити висновок про відповідність концентрації АФС в супозиторії терапевтичній дозі, не менше 106 БОЕ/ мл.

До клінічні випробування супозиторної лікарської форми, що заявляється, проведені на лабораторних тваринах (кроликах), також підтверджують безпеку і оптимальність розробленого складу супозиторіїв з точки зору забезпечуваного рівня біодоступності АФС. Рівень бактеріофагів у зразках клінічного матеріалу, отриманого від кроликів після одноразового введення супозиторіїв досягав максимуму через 4,5-6 годин після введення супозиторіїв. Бактеріофаги зберігалися в крові, сечі та калі неінфікованих бактерією-господарем тварин до 24 годин і більше. Підтверджений фармакокінетичними та імунологічними методами досліджень системний механізм дії ректально введеного препарату на основі субстанції бактеріофагів передбачає створення нового підходу до індивідуалізованої антибактеріальної терапії для лікування інфекцій, спричинених лікарсько-стійкими штамми збудників.

Література

1. «Bacteriophages and Probiotics - Alternatives to Antibiotics» dedicated to the 120th birth anniversary of Professor George Eliava, July 1-4, 2012, Tbilisi, Georgia.
2. Abuladze T, Li M, Menetrez MY, Dean T, Senecal A, Sulakvelidze A. Bacteriophages reduce experimental contamination of hard surfaces, tomato, spinach, broccoli, and ground beef by *Escherichia coli* O157:H7. *Appl Environ Microbiol.* 2008; 74(20):6230-8.
3. Alisky J, Iczkowski K, Rapoport A, Troitsky N. Bacteriophages show promise as antimicrobial agents. *J Infect.* 1998;36:5-15.
4. Bacteriophages. Ed. Ipek Kurtboke, InTech, 2012; 268. Abedon TS, Kuhl JS, Blasdel GB, Kutter ME. Phage treatment of human infections. *Bacteriophage*, 2011; 1(2):66-85.
5. Boratyński J, Syper D, Weber-Dabrowska B, Łusiak-Szelachowska M, Poźniak G, Górski A. Preparation of endotoxin-free bacteriophages. *Cell mol boil lett.* 2004; 9:253-9.
6. Borysowski J, Dabrowska K, Ohams M, et al. The response of the immune system to phage: potential associations with phage therapy. Abstract book,

conference.

7. Breitbart M, Haynes M, Kelley S, Angly F, Edwards RA, Felts B, et al. Viral diversity and dynamics in an infant gut. *Research in Microbiology*. 2008; 159:367-73.

8. Bruce S. Seal, Nikolay V. Volozhantsev, Brian B. Oakley, Cesar A. Morales, Johnna K. Garrish, Mustafa Simmons, Edward A. Svetoch and Gregory R. Siragusa. Bacteriophages of *Clostridium perfringens*. In book: *Bacteriophages*, Edited by Ipek Kurtboke, ISBN 978-953-51-0272-4, 268 pages, Publisher: InTech, Chapters published March 14, 2012 under CC BY 3.0 license. DOI: 10.5772/1065.

БІЛКОВО-ЖИРОВИЙ ДЕСЕРТ ТИПУ САМБУК СПЕЦІАЛЬНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ НА ОСНОВІ НАСІННЯ ОЛІЙНИХ КУЛЬТУР

Стаховець Н.Б.¹, Петік І.П.², Федякіна З.П.², Бочкарев С.В.³

¹*ФОП Сафаров Б., м. Харків,*

²*Український науково-дослідний інститут олій та жирів НААН України,
м. Харків, Україна*

³*Національний технічний університет «Харківський політехнічний
інститут», м. Харків, nadyastahovetc@ukr.net*

В останні роки, як в Україні, так і в усьому світі, популярності у населення набуває перехід до зорового способу життя. Складовою частиною зорового способу життя є раціональне харчування, яке неможливо без споживання продуктів підвищеної харчової цінності. Завдяки цьому ринок корисних продуктів активно розвивається, не винятком є і десерти. Саме тому актуальним є створення асортименту десертів, збагаченого вітамінами, макро- та мікроелементами, амінокислотами та ліпідами, необхідними для організму людини. Терміни «зоровий спосіб життя», «здорове харчування», «фізична культура і спорт» та «спортивне харчування» завжди стоять поруч. Взаємозв'язок харчування і фізичної роботи м'язової системи людини має пряме відображення в тому, що будь-яка фізична активність, якою б не була її інтенсивність, вимагає витрати енергії. Знання ролі харчування у формуванні та підтримці фізичного стану і працездатності має значення як для населення в цілому, так і для окремих його прошарків, а саме осіб, які страждають на цукровий діабет, осіб, працюючих в умовах підвищених енерговитрат, спортсменів та осіб, які ведуть здоровий спосіб життя [1].

Ринок натуральних солодошів в Україні поступово розвивається, завдяки тенденціям до здорового харчування. Завдяки великій кількості на українському ринку різних видів фруктів та овочів в країні почали виробляти солодоші на натуральній основі [2]. Розвиток ринку натуральних солодошів є дуже перспективним напрямком в Україні. Також можна зауважити, що з певних причин в асортименті продукції, яка виготовляється на ринку України в