

Schyłek ery antybiotyków? Przykłady działań alternatywnych dla antybiotyków

Renata Urban-Chmiel, Ewelina Pyzik, Marta Dec, Andrzej Puchalski, Agnieszka Marek, Dagmara Stępień-Pyśniak, Anna Nowaczek, Klaudia Herman

z Katedry Prewencji Weterynaryjnej i Chorób Ptaków Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie

Odkrycie penicyliny w latach 20. XX wieku przez szkockiego bakteriologa Aleksandra Fleminga zainicjowało erę antybiotyków w zwalczaniu zakażeń wywołanych przez bakterie. Oczekiwano, że odkrycie substancji o właściwościach antybakteryjnych trwale ograniczy występowanie zakażeń bakteryjnych zagrażających zdrowiu i życiu. Penicylina została uznana za podstawowy lek w leczeniu zakażeń bakteryjnych naprzód u ludzi, a następnie u zwierząt. Pojawienie się chemioterapeutyków spowodowało znaczny spadek zakażeń wywołanych przez bakterie (1).

Od czasu odkrycia penicyliny wprowadzono wiele nowych grup antybiotyków, jednak ich nadmierne i często nieuzasadnione stosowanie, a przede wszystkim nieprawidłowe dawkowanie, doprowadziło do wielu nieprzewidzianych problemów. Przykładem nierozważnego stosowania antybiotyków było chociażby ich wykorzystywanie jako dodatków paszowych, tzw. stymulatorów wzrostu, w hodowli zwierząt konsumpcyjnych (bydło, świnie, drób). W tej grupie antybiotyków dominowały szczególnie awoparcyna, monenzyna, flawofosfolipol, salinomycyna, spiramycyna, tylozyna, wirginiamycyna i bacytracyna. Chociaż jako pierwsze stosowano w tym celu penicylinę, chlorotetracyklinę oraz oksytetracyklinę (2).

Innym przykładem było niekontrolowane przedostawanie się chemioterapeutyków do środowiska naturalnego m.in. w trakcie procesów produkcyjnych bezpośrednio do wód powierzchniowych, leki spożywane przez ludzi i zwierzęta po wchłonięciu i metabolizowaniu wydalane w postaci biologicznie aktywnych metabolitów do systemów kanalizacyjnych. Szczególnym zagrożeniem jest przedostawanie się pozostałości leków weterynaryjnych stosowanych u zwierząt wypasanych na łąkach do wód i gleby w postaci obornika czy gnojowicy (3).

Największe nasilenie stosowania antybiotyków paszowych przypadało od lat 60. do początku lat 80. ubiegłego wieku. Po raz pierwszy zjawisko antybiotykooporności bakterii izolowanych od zwierząt opisano w 1969 r. w tzw. raporcie Swanna, który zainicjował podział środków antybakteryjnych na antybiotyki paszowe i lecznicze (2).

W kolejnych latach wprowadzono rozwiązania legisłacyjne zmierzające do stopniowego wycofywania „antybiotyków paszowych”, określanych także jako dodatki paszowe w żywieniu zwierząt hodowlanych. Szczegółowe informacje dotyczące wycofywanych antybiotyków przedstawiono w **tabeli 1**.

Najpoważniejszym problemem jest stale rosnąca liczba bakterii opornych na powszechnie stosowane

The end of the age of antibiotics? Alternatives to overcoming bacterial resistance

Urban-Chmiel R., Pyzik E., Dec M., Puchalski A., Marek A., Stępień-Pyśniak D., Nowaczek A., Herman K., Department of Veterinary Prevention and Avian Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

The „golden age” of antibiotics seems to be coming to an end. The effect of uncontrolled distribution of chemotherapeutic agents in animal production is the commonly growing phenomenon of dramatic drug resistance in bacterial populations.

At the end of the 20th century, the repeated failures to effectively control of bacterial infections have initiated the introduction of legislative procedures to limit the use of antibiotics, especially as feed additives in animals. The next step was the developing of alternative for antibiotics to control bacteria, with particular emphasis on natural substances as extracts and oils obtained from plants, which have been used against Gram – positive and Gram – negative bacteria, as well as *Candida* fungi. These are cationic peptides stabilized by cysteine (defensins and cathelicidins) – identified both in prokaryotes and eukaryotes. Other examples are the nanoparticles, especially silver, gold or platinum. The use of bacteriophages as natural anti-bacterial agents, which bactericidal effect has been demonstrated in numerous experimental therapies in humans and animals, also deserves special emphasis. In this article scientific approaches to novel antibacterial therapies were presented and briefly discussed. As a consequence of the threat of widespread and global growth of multi-resistant bacteria there is a strong need to develop of alternative for antibiotics in elimination of multidrug resistant pathogens.

Keywords: antibiotics, animals, bacteriophages, biocontrol, cationic peptides, nanoparticles, probiotics.

antybiotyki, w tym leki ostatniej szansy (wankomycyna). Zjawisko to dotyczy obecnie wszystkich gatunków drobnoustrojów, a także wszystkich antybiotyków. Szybkość, z jaką geny oporności mogą rozprzestrzeniać się po całym świecie, potwierdzają niepokojący wzrost problemu, który wpływa na zdrowie publiczne w skali globalnej i którego rozwiązanie wymaga współpracy międzynarodowej.

Leki stosowane w zwalczaniu zakażeń u ludzi i zwierząt obejmują penicyliny, metycylinę, tetracykliny, fluorochinolony, aminoglikozydy, linezolid i daptomycynę, ale ich skuteczność maleje ze względu na zdolność bakterii do rozwijania mechanizmów przeciwdziałania tym czynnikom (7). Przykładem jest oporny na metycylinę *S. aureus* (MRSA), który jest odpowiedzialny za poważne zakażenia szpitalne i uznawany za najbardziej niebezpieczny rodzaj bakterii. Istotnym problemem jest znaczne rozpowszechnienie szczepów, które często są podatne tylko na jedną grupę leków (glikopeptydy, np. wankomycynę; 8).

Tabela 1. Działania legislacyjne dotyczące zakazu stosowania antybiotyków jako dodatków paszowych w żywieniu zwierząt hodowlanych

Dodatek paszowy*	Rok wycofania	Gatunki zwierząt	Akt prawny
Awoparcyna	1997	drób bydło świnie	art. 1 Dyrektywy Komisji 97/6/WE z 30 stycznia 1997 r. (4)
Bacytracyna	1999	drób (wyłączając kaczki, gęsi i kury nioski) cielęta jagnięta i kozłeta świnie	art. 1 Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 2821/98 z 17 grudnia 1998 r. (5)
Chlorotetracyklina	2006	drób (wyłączając kaczki, gęsi i kury nioski) cielęta świnie	art. 11 Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1831/2003 z 22 sierpnia 2003 r. (6)
Flawofosfolipol	2006	drób (wyłączając kaczki, gęsi i kury nioski) cielęta świnie zwierzęta futerkowe	art. 11 Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1831/2003 z 22 sierpnia 2003 r. (6)
Penicylina	2006	drób (wyłączając kaczki, gęsi i kury nioski) cielęta jagnięta i kozłeta świnie zwierzęta futerkowe	art. 11 Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1831/2003 z 22 sierpnia 2003 r. (6)
Spiramycyna	1999	drób (wyłączając kaczki, gęsi i kury nioski) cielęta jagnięta i kozłeta świnie zwierzęta futerkowe	art. 1 Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 2821/98 z 17 grudnia 1998 r. (5)
Tetracyklina	2006	drób (wyłączając kaczki, gęsi i kury nioski) cielęta jagnięta i kozłeta świnie zwierzęta futerkowe	art. 11 Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1831/2003 z 22 sierpnia 2003 r. (6)
Wirginiamycyna	1999	drób (wyłączając kaczki, gęsi i kury nioski) świnie	art. 1 Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 2821/98 z 17 grudnia 1998 r. (5)

*Zgodnie z dyrektywą komisji z dnia 23 listopada 1970 r. dotyczącą dodatków paszowych (70/524/EWG). Dz.Urz. UE L 270 z 14.12.1970, s. 1–17.

Należy to uznać za bardzo niebezpieczne, zwłaszcza że szczepy odporne na wankomycynę, które występują już na całym świecie (w tym w Polsce), stwarzają poważne zagrożenie dla zdrowia i życia pacjentów (9).

Taka sytuacja wymaga ścisłego przestrzegania zasad bezpiecznej i skutecznej antybiotykoterapii, regularnego monitorowania antybiotykooporności bakterii izolowanych od zwierząt przeznaczonych do produkcji żywności, a także zwierząt domowych, dzikich i ich środowisk życia oraz poszukiwania nowych sposobów zwalczania bakterii.

Strategie te powinny również obejmować wysiłki zmierzające do międzynarodowego zakazu stosowania antybiotyków jako stymulatorów wzrostu zwierząt oraz rozwój praktyk w hodowli zwierząt, które zmniejszają ryzyko pojawienia się oporności na antybiotyki. Przykładem aktualnie wdrażanych działań jest również wprowadzanie nowych legislacji na terenie krajów Unii Europejskiej, jak przyjęte dwa lata temu rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady UE nr 2019/6 (z mocą ustawy obowiązujące wszystkie kraje członkowskie UE) z dnia 11 grudnia 2018 r. w sprawie weterynaryjnych produktów leczniczych (10). Rozporządzenie weszło w życie z dniem 1 stycznia 2022 r., a jego rezultatem jest opracowana lista antybiotyków zarezerwowanych wyłącznie dla ludzi, a tym samym zakazanych do stosowania

w medycynie weterynaryjnej. W ślad za wprowadzanymi przepisami prawnymi podejmowane są przez krajowe organizacje stosowne uchwały, w tym uchwała nr 63/2020/VII Krajowej Rady Lekarsko-Weterynaryjnej z dnia 25 sierpnia 2020 r. w sprawie przyjęcia Kodeksu rozważnego stosowania produktów leczniczych przeciwdrobnoustrojowych przez lekarzy weterynarii (11).

W ramach podejmowanych strategii w ograniczaniu zjawiska lekooporności wśród drobnoustrojów niezbędne jest również zwiększenie potencjału badawczego w takich obszarach, jak doskonalenie genetyczne zwierząt w celu identyfikacji markerów związanych ze zwiększoną wrodzoną odpornością na patogeny, poszukiwanie nowych środków przeciwdrobnoustrojowych, określenie roli bakterii występujących w hodowli zwierząt w przenoszeniu antybiotykooporności na florę bakteryjną człowieka i związanego z tym potencjalnego ryzyka oraz inne strategie zapobiegania i kontrolowania chorób zakaźnych u zwierząt. Obecnie wdrażane strategie przeciwdrobnoustrojowej oporności na antybiotyki opierają się na alternatywnym stosowaniu bakteriofagów lub ich enzymów litycznych, nowych szczepionkach oraz bakteriobójczych lub bakterioostatycznych białek lub peptydów syntetyzowanych przez bakterie, rośliny, bezkręgowce, kręgowce i ssaki (12).

Do tej pory opisano ok. 1000 substancji, wśród których z punktu widzenia ich potencjalnego zastosowania w leczeniu ludzi i zwierząt wyróżnia się m.in. ekstrakty i olejki eteryczne pozyskiwane z roślin (mięta, tymianek, czosnek, hibiskus, rozmaryn, bergamont i in.), które znalazły zastosowanie w zwalczaniu zakażeń wywoływanych przez bakterie Gram-dodatnie (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*) i Gram-ujemne (*Escherichia coli*, *Salmonella* Enteritidis, *Vibrio parahaemolyticus* i *Pseudomonas aeruginosa*), a także grzyby z rodzaju *Candida* (13). Drugą grupą substancji o działaniu przeciwdrobnoustrojowym są peptydy kationowe stabilizowane cysteiną (defensyny i katelicydyny), zwane również naturalnymi antybiotykami, które zidentyfikowano zarówno u organizmów prokariotycznych (bakterii), jak też eukariotycznych, w tym roślin, bezkręgowców, kręgowców, ssaków, a także człowieka (14). Obecnie znana jest sekwencja ponad 880 peptydów przeciwdrobnoustrojowych, zaliczanych do oligo- i polipeptydów wykazujących efekt bakteriobójczy lub hamujący wzrost bakterii zarówno Gram-ujemnych, jak i Gram-dodatnich, neutralizację toksyn oraz aktywność przeciwwirusową (15).

Dobrym działaniem jest również promowanie probiotycznych szczepów bakterii jelitowych *Lactobacillus* spp., *Bifidobacter* spp. *Bacillus subtilis*, *Pedococcus acidilactici* przy jednoczesnej eliminacji szczepów patogennych. W wielu badaniach prowadzonych szczególnie na zwierzętach hodowlanych potwierdzono, że doustna aplikacja szczepów probiotycznych istotnie redukuje występowanie i kolonizację szczepów *Salmonella* Enteritidis, *S. Enterica*, *S. Typhimurium*, *Campylobacter* spp., *Clostridium perfringens*, *Enterococcus* spp., APEC oraz patogennych (STEC, VETC i ETEC) *E. coli* w jelitach u drobiu, świń oraz bydła. Należy podkreślić, że wymienione szczepy stanowią ogromne zagrożenie dla ludzi i zaliczane są do bakterii zoonotycznych. Probiotyki mogą stanowić alternatywę dla tzw. antybiotyków paszowych ze względu na obserwowany proces stymulowania dziennych przyrostów wagowych oraz ograniczenie występowania biegunek u zwierząt produkcyjnych, co potwierdzono w badaniach prowadzonych u świń oraz bydła. Zauważono również, że suplementacja bakterii probiotycznych *Lactobacillus* spp. u loch ciężarnych, skutkowała wzrostem masy miotu o 14,45% oraz wzrostem liczby prosiąt, które uzyskały masę kwalifikującą do odsadzenia w 28. dniu po urodzeniu (16).

Innym sposobem ograniczania stosowania antybiotyków, np. poprzez skracanie czasu trwania antybiotykoterapii, jest chociażby stosowanie witaminy D. Prowadzone są również badania nad potencjalnym zastosowaniem terapii fotodynamicznej i nanocząsteczek srebra, złota lub platyny, które w połączeniu z wybranymi antybiotykami, np. ampicylina, streptomycyna lub kanamycyna, mogą obniżyć minimalne stężenia hamujące (MIC) odpowiedników antybiotyków zarówno przeciwko bakteriom Gram-ujemnym, jak i Gram-dodatnim. Występowanie efektu synergistycznego potwierdzono również w przypadku funkcjonalizowanych nanocząsteczek

złota i antybiotyków fluorochinolonowych w leczeniu zakażeń wywoływanych przez wielooporne szczepy *Escherichia coli*. Wykazano istotny wpływ właściwości fizykochemicznych (wielkość, kształt, modyfikacja chemiczna, rozpuszczalnik, czynniki środowiskowe) na właściwości przeciwbakteryjne badanych nanocząsteczek (17). Mechanizm oddziaływania nanocząsteczek obejmuje m.in. bezpośrednią interakcję z bakteriami i zakłócenie potencjału i integralności błony, indukowanie odpowiedzi immunologicznej gospodarza, hamowanie tworzenia biofilmu bakteryjnego, aktywację produkcji i uwalnianie reaktywnych form tlenu oraz syntezę RNA i białek (18).

Uważa się również, że nanocząsteczki, uznawane za antybiotyki nowej generacji, mogą być stosowane niezależnie od antybiotyków, co potwierdzono w licznych badaniach *in vitro* i *in vivo*, w których obserwowano efekt antibakteryjny w odniesieniu do bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych (tab. 2).

Szczególnie obiecującym działaniem wydają się prowadzone i rozwijane zwłaszcza w ostatnim 20-leciu badania nad wykorzystaniem bakteriofagów zarówno w terapiach, jak również w kontroli zakażeń bakteryjnych.

Bakteriofagi znane jako wirusy bakteryjne to najliczniejsza forma życia na ziemi, obecna wszędzie tam, gdzie istnieje potencjalny gospodarz – bakteria. Bakteriofagi to najbardziej rozpowszechnione formy życia na ziemi, a ich łączna liczba została oszacowana na 10^{32} wirionów, co stanowi 10-krotność liczby aktualnie scharakteryzowanych bakterii. W wodzie całkowitą liczbę bakteriofagów szacuje się na 10^4 do 10^8 wirionów/ml⁻¹. Powszechne występowanie bakteriofagów wiąże się z różnorodnymi środowiskami (ścieki, woda, gleba, zarośla lub produkty żywnościowe). Ich obecność potwierdzono także w komercyjnych surowicach, szczepionkach dla ludzi, jamie ustnej (płytką nazębna i ślina), jak również na skórze, we włosach i przewodzie pokarmowym ludzi i zwierząt. Obecność fagów jest naturalnym mechanizmem istniejącym od miliardów lat, zapewniającym równowagę bakterii w środowisku naturalnym (12).

Bakteriofagi zostały po raz pierwszy odkryte ponad 100 lat temu przez dwóch niezależnych naukowców – angielskiego bakteriologa Fredericka Tworta oraz francusko-kanadyjskiego mikrobiologa Felixa d’Herelle (19, 20). Warto również zauważyć, że pierwsze doniesienia o bakteriofagach były już wcześniej przedstawiane przez brytyjskiego bakteriologa Ernesta Hankina, który w 1896 r. odkrył niewiadomą „zawieszinę biologiczną” otrzymaną z wód rzeki Ganges w Indiach (21). Według pierwszych badań nad wykorzystaniem bakteriofagów w badaniach klinicznych, opublikowanych w 1921 r. w Belgii przez Bruynoghe i Maisin, dzięki bakteriofagom zastosowanym w leczeniu martwicy skóry wywołanej przez gronkocę, uzyskano znaczną poprawę stanu klinicznego pacjentów (zmniejszenie bólu, obrzęku i gorączki) w ciągu 48 godzin po aplikacji (22).

Ze względu na wysoką swoistość wobec bakterii docelowych bakteriofagi są stosowane w różnych typach eksperymentalnych terapii celowanych u ludzi i zwierząt, w szczególności w leczeniu ostrych

Tabela 2. Wykorzystanie nanocząstek w odniesieniu do wybranych drobnoustrojów (17)

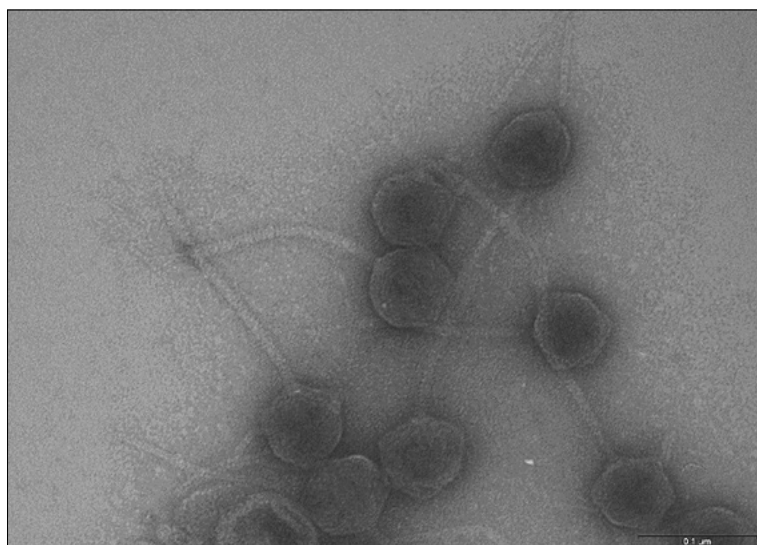
Rodzaj nanocząstek	Patogen	Mechanizm działania
Nanocząsteczki złota (Au)	metycylinooporne szczepy <i>S. aureus</i> (MRSA)	utrata potencjału błonowego przez komórki bakterii; hamowanie cytochromów w łańcuchu transportu elektronów; redukcja aktywności ATPazy; spadek wiązania tRNA z podjednostką rybosomu; dezintegracja błony komórki bakteryjnej; generowanie por w ścianie komórkowej bakterii
Nanocząsteczki srebra (Ag)	metycylinooporne szczepy <i>S. aureus</i> (MRSA), wankomycynooporne <i>Enterococcus</i> (VRE); organizmy wytwarzające beta-laktamazę o rozszerzonym spektrum, wielooporne szczepy (ESBL) i (MDR) <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>A. baumani</i>	indukcja uwalniania wolnych rodników (ROS); wzrost peroksydacji lipidów; hamowanie cytochromów w łańcuchu transportu elektronów; dezintegracja błony komórki bakteryjnej; hamowanie syntezy ściany komórkowej; wzrost przepuszczalności błony komórki bakteryjnej; adhezja do powierzchni komórek bakterii powodująca uszkodzenie lipidów i białek; rozproszenie gradientu protonów powodujące lizę komórki bakteryjnej; destabilizacja rybosomów; dodatkowe wiązania między cząstkami DNA
Nanocząsteczki miedzi (Cu)	MDR (<i>E. coli</i>), <i>A. baumani</i>	uszkodzenie ściany komórkowej bakterii przez wolne rodniki; indukcja uwalniania wolnych rodników (ROS); wzrost peroksydacji lipidów i białek; uszkodzanie DNA bakterii
Nanocząsteczki krzemu (Si)	metycylinooporne szczepy <i>S. aureus</i> (MRSA)	uszkodzenie ściany komórkowej przez wolne rodniki
Nanocząsteczki glinu (Al)	MDR (<i>E. coli</i>)	
Nanocząsteczki tlenku żelaza (Fe_3O_4)	MDR (<i>E. coli</i>), <i>K. pneumoniae</i> ; metycylinooporne szczepy <i>S. aureus</i> (MRSA)	generowanie przez wolne rodniki: nadlitenkowe (O_2^-), tlen singletowy (1O_2), hydroksylowy (OH \cdot), nadtlenek wodoru (H_2O_2), stresu oksydacyjnego
Nanocząsteczki tlenku cynku (ZnO)	<i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp., metycylinooporne szczepy <i>S. aureus</i> (MRSA), ESBL – <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i>	indukcja uwalniania wolnych rodników (ROS); uszkodzenie błony komórki bakteryjnej; adsorpcja na powierzchni komórki bakterii; uszkodzenia lipidów i białek
Nanocząsteczki dwutlenku tytanu (TiO_2)	<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Enterococcus faecium</i>	indukcja uwalniania wolnych rodników (ROS); przyleganie do powierzchni komórek bakterii
Nanocząsteczki tlenku magnezu (MgO)	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i>	indukcja uwalniania wolnych rodników (ROS); wzrost peroksydacji lipidów; oddziaływanie elektrostatyczne i alkaliczne

i przewlekłych zakażeń dermatologicznych, okulistycznych, urologicznych, także w zakażeniach jamy ustnej, w pediatrii, otolaryngologii i chirurgii. Znaczące sukcesy terapeutyczne były osiągnięte w początkowym okresie stosowania fagoterapii, szczególnie w okresie przed antybiotykami. Według źródeł z lat 20. i 30. XX wieku bakteriofagi wykorzystywano w leczeniu chociażby zakażeń wywołanych przez pneumokoki czy pałeczki błonicy. Struktura i kształt bakteriofagów zostały poznane dopiero w latach 40. XX wieku (23) przy pomocy

rozwijających się technik mikroskopii elektronicznej (ryc. 1).

Pojawienie się chemioterapeutyków spowodowało znaczne ograniczenie zainteresowania badaniami z zakresu wykorzystania bakteriofagów w zwalczaniu zakażeń. W Europie Zachodniej fagoterapię zostały całkowicie wyeliminowane z badań medycznych, choć pozostały aktywnym obszarem badań i rozwoju m.in. w Europie Wschodniej, głównie w Gruzji (Instytut Eliawy w Tbilisi) oraz w Polsce (Zakład Terapii Fagowej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu), a także w mniejszym stopniu w Indiach. Warto zauważyć, że w ciągu ostatniej dekady pojawienie się bakterii wielolekoopornych skłoniło naukowców do ponownego rozważenia tego stuletniego odkrycia i świeżego spojrzenia na terapię fagową jako nową i potencjalnie skuteczną opcję leczenia trudnych patogenów bakteryjnych (24).

Bakteriofagi charakteryzują się specyficznymi mechanizmami działania na komórki gospodarza. Replikacja odbywa się wyłącznie w żywych bakteriach wrażliwych na danego faga, a jej sposób jest podobny do wirusów eukariotycznych. Zarówno w cyklu litycznym, jak i lizogenicznym dochodzi do adsorpcji, penetracji, replikacji kwasów nukleinowych, tworzenia wirionów i ich uwalniania z komórki gospodarza. Swoistość i spektrum aktywności fagów określa się na podstawie obecności receptorów powierzchniowych komórek bakteryjnych, tj. LPS, otoczek, fimbrii i innych białek. Fagi zaliczane do *Caudovirales* stanowią ok 96% fagów, zgrupowanych w trzech rodzinach:



Ryc. 1. Bakteriofagi *E. coli*. Obraz z mikroskopii elektronicznej TEM preparatów wybarwionych negatywowo (fotografia własna autora artykułu)

Myoviridae, *Siphoviridae* i *Podoviridae*. Ze względu na ich swoistość wobec określonych bakterii fagi mogą być stosowane w eksperymentalnych terapiach u ludzi, np. w leczeniu ostrych i przewlekłych zakażeń dermatologicznych, okulistycznych, urologicznych, pokarmowych, otolaryngologicznych i chirurgicznych. Wysoka skuteczność i bezpieczeństwo terapii fagowej w porównaniu do antybiotyków wynika z ich swoistości wobec wybranych bakterii, co przejawia się zdolnością zakażenia tylko jednego gatunku, serotypu lub szczepu. Taki mechanizm nie powoduje zniszczenia komensalnej mikroflory jelitowej, a autoreplikacja fagów eliminuje konieczność powtarzania aplikacji. Również pojedyncze zastosowanie fagów eliminuje patogeny, w przeciwieństwie do niektórych antybiotyków, które muszą być podawane wielokrotnie. Kolejną zaletą jest brak bariery gatunkowej w antybakteryjnej aktywności fagów, co oznacza, że te same fagi można stosować w zwalczaniu infekcji u ludzi i zwierząt (9). Szczegółowe informacje na temat zalet i wad bakteriofagów przedstawiono w tabeli 3.

Biorąc pod uwagę, że wielu chorób nie da się wyleczyć tradycyjnymi metodami, a ostatni antybiotyk został opracowany ponad 20 lat temu, pojawia się opcja, że niebawem zwalczanie infekcji u ludzi i zwierząt

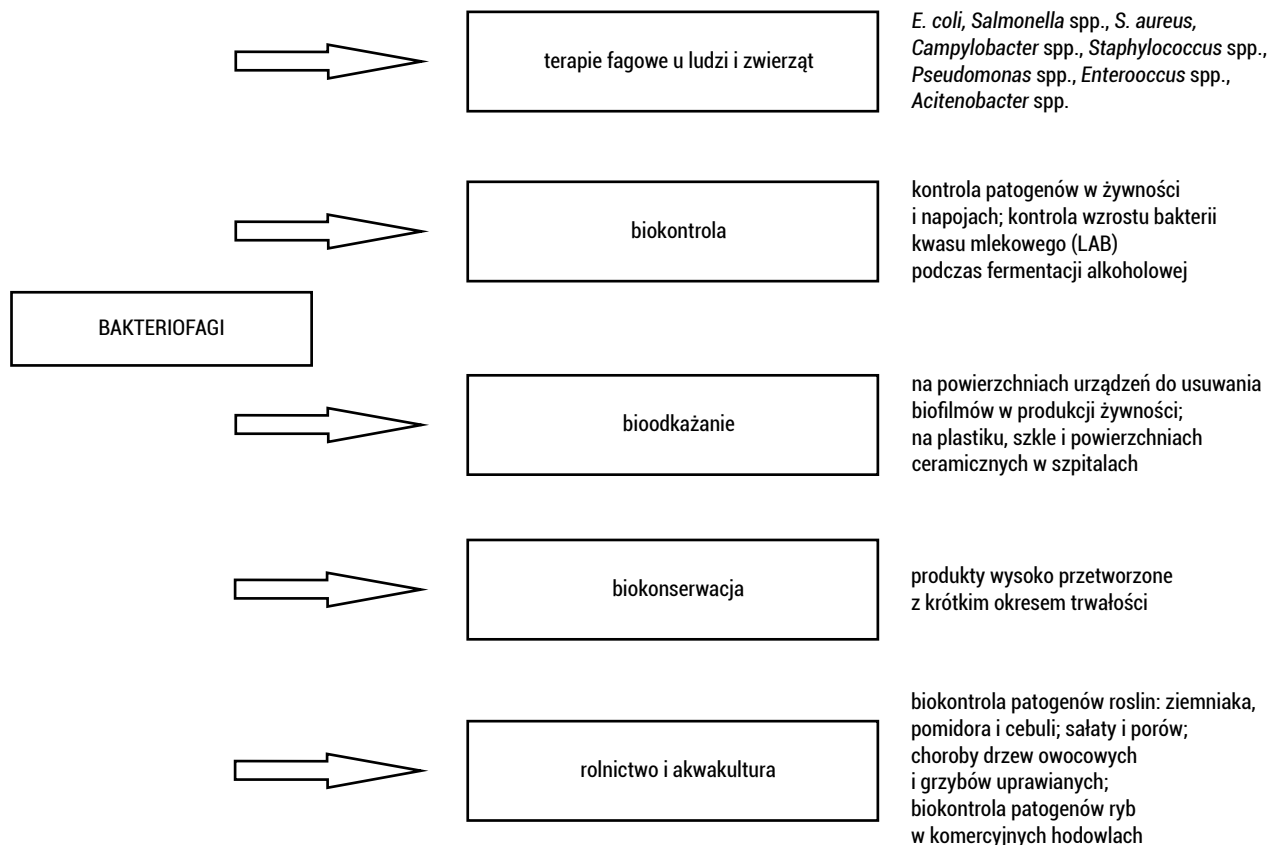
wywołanych przez drobnoustroje, które obecnie nie są uważane za zagrożenie dla zdrowia, będzie niemożliwa. Pozyskiwanie nowych fagów staje się więc ważnym zagadnieniem w ośrodkach naukowych, gdyż nie każdy fag spełnia kryteria zastosowania jako składnik preparatu przeciwbakteryjnego. W dostępnym piśmiennictwie poza aspektem terapeutycznym u ludzi i zwierząt bakteriofagi przedstawiane są jak alternatywne dla antybiotyków metody kontroli patogenów w różnych etapach produkcji, w tym także jako komercyjne preparaty fagowe w kontroli zanieczyszczenia żywności. Przykłady zakresu wykorzystywania bakteriofagów zamieszczono na **rycynie 2**.

Reasumując, na podstawie przedstawionych przykładów, będących także rezultatem badań własnych, można przyjąć, że w konsekwencji zagrożenia powszechnego i globalnego wzrostu bakterii wieloopornych, przy jednoczesnych ograniczonych efektach badań nad opracowywaniem nowych grup antybiotyków, istnieje konieczność rozwijania alternatywnych dla antybiotyków metod zwalczania bakterii.

Wśród prezentowanych przykładów zdecydowanie najbardziej obiecujące i jednocześnie proekologiczne wydają się terapie fagowe. Działania zastępcze wymagają jednakże prowadzenia dalszych badań

Tabela 3. Zalety i wady bakteriofagów (9, 12)

Zalety działania bakteriofagów	Wady użycia bakteriofagów
Wszechobecne w środowisku naturalnym; naturalni zabójcy bakterii; przyjazne dla środowiska.	Wąskie spektrum działania przeciwbakteryjnego – ściśle specyficzne dla jednego rodzaju bakterii, stąd konieczność dokładnej identyfikacji czynnika chorobotwórczego.
Bakteriofagi powodują całkowitą lizę bakterii, natomiast antybiotyki często działają jedynie jako środki bakteriostatyczne.	Konieczność dokładnej identyfikacji faga: do terapii fagowej nadają się tylko fagi lityczne, natomiast fagi lizogenne są wykluczone ze względu na możliwość transferu czynników wirulencji oraz oporności drobnoustrojów.
Namnażają się w miejscu infekcji, dlatego nie muszą być stosowane w dużych i powtarzanych dawkach.	Większa objętość cząstek fagów w porównaniu do innych leków może uniemożliwić ich stosowanie w niektórych chorobach, z uwagi na ograniczony transfer pomiędzy tkankami.
Mogą powodować lizę bakterii opornych na antybiotyki, w tym bakterii żyjących w biofilmie.	Ryzyko wystąpienia objawów gorączkowych oraz wstrząsu w efekcie lizy znacznej liczby bakterii Gram-ujemnych przez fagi.
Wykazują ograniczoną swoistość wobec żywicieli bakteryjnych, zakażając tylko jeden gatunek lub nawet jeden szczep, dzięki czemu nie wpływają na florę komensalną, co zmniejsza ryzyko wtórnych infekcji bakteryjnych.	Białkowa struktura bakteriofagów może indukować odpowiedź immunologiczną organizmu, przyczyniając się do ograniczenia ich efektu terapeutycznego.
Bakteriofagi w ogromnej większości składają się wyłącznie z białek i kwasów nukleinowych, co ogranicza ich potencjalne mechanizmy toksyczności.	Ze względu na specyfikę bakteriofagów jeden fag nie może być użyty do leczenia szerokiego spektrum infekcji, jak w przypadku antybiotyków. Niezbędne jest zatem podanie koktajlu fagowego.
Specyfika bakteriofagów ogranicza możliwość pojawienia się odporności, ponieważ nie wywierają selektywnej presji na bakterie, które nie są ich gospodarzami.	Koktajle fagowe mogą wywoływać dysfunkcję bariery jelitowej, co jest znane jako „nieszczelne jelito” (biegunka, w nasilonym procesie zapalnym).
Obumierają wraz z likwidacją swoistych dla nich bakterii, co eliminuje okres karencji po terapiach fagowych u zwierząt hodowlanych.	Bardzo słaba stabilność preparatów fagowych, co skraca ich okres przydatności.
Fagi mogą być stosowane w połączeniu z innymi środkami przeciwbakteryjnymi, w tym innymi fagami, co znacznie rozszerza ich spektrum działania przeciwbakteryjnego.	Brak standaryzowanych technik i protokołów, a co za tym idzie ogromne różnice w efektach terapii.
Odpady z produkcji preparatów fagowych i obróbki nimi są w większości biodegradowalne, a ich ekotoksyczność wpływa jedynie na potencjalnych żywicieli faga.	Ograniczona wiedza na temat kinetyki fagów – problemy z dostosowaniem odpowiedniej i uniwersalnej dawki.
Prosta i ekonomiczna produkcja preparatów fagowych.	Występują problemy z percepcją konsumentów, związane ze stosowaniem preparatów fagowych do zwalczania patogenów przenoszonych na żywność (konserwowanie żywności).
Ludzie mają stały kontakt z bakteriofagami, które są obecne w wodzie, powietrzu i pożywieniu (brak negatywnych reakcji na fagi).	Obecność wirusów bakteryjnych w żywności może zniechęcać konsumentów do jej spożywania.



Ryc. 2. Przykłady wykorzystania bakteriofagów

celem poznania wszystkich możliwych mechanizmów aktywności tych wirusów bakteryjnych, aby umożliwić ich uniwersalne wykorzystywanie w terapiach fagowych, konserwacji żywności, a także asenizacji.

Piśmiennictwo

- 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**, 547–555.
- Przenosiło-Siwczyńska M., Kwiatek K.: Dlaczego zakazano stosowania w żywieniu zwierząt antybiotykowych stymulatorów wzrostu? *Życie Wet.* 2013, **88**, 104–108.
- Wydro U., Wołejko E., Struk-Sokołowska J., Puchlik M.: Pozostałości farmaceutyków w środowisku oraz możliwości ich usuwania. 2015. <http://www.eko-dok.pl/2016/28.pdf>.
- Dyrektywa Komisji z 30 stycznia 1997 r. zmieniającej dyrektywę Rady 70/524/EWG dotyczącą dodatków paszowych (tekst mający znaczenie dla EOG), Dz. Urz. WE L 035 z 5.02.1997, s. 11–13.
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 2821/98 z 17 grudnia 1998 r. zmieniający w odniesieniu do cofnięcia zezwolenia dla niektórych antybiotyków dyrektywę 70/524/EWG dotyczącą dodatków paszowych, Dz. Urz. WE L 351 z 29.12.1998, s. 4–8.
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1831/2003 z dnia 22 sierpnia 2003 r. w sprawie dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt. Dz. Urz. WE L 268 z 18.10.2003, s. 29–43.
- Pournajaf A., Ardebili A., Goudarzi L., Khodabandeh M., Narimani T., Abbaszadeh H.: PCR-based identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains and their antibiotic resistance profiles. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 2014, **4**, 293–297.
- Gardette S., Tomasz A.: Mechanisms of vancomycin resistance in *Staphyl. aureus*. *J. Clin. Invest.* 2014, **124**, 2836.
- Pyzik E., Radzki R.P., Urban-Chmiel R.: Experimental Phage Therapies in Companion Animals with A Historical Review. *Curr. Rev. Clin. Exp. Pharmacol.* 2021, **16**, 17–29.
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2019/6 z dnia 11 grudnia 2018 r. w sprawie weterynaryjnych produktów leczniczych i uchylające dyrektywę 2001/82/WE.
- Uchwała nr 63/2020/VII Krajowej Rady Lekarsko-Weterynaryjnej z dnia 25 sierpnia 2020 r. w sprawie przyjęcia Kodeksu rozważnego stosowania produktów leczniczych przeciwdrobnoustrojowych przez lekarzy weterynarii.
- Dec M., Wernicki A., Urban-Chmiel R.: Efficacy of experimental phage therapies in livestock. *Anim. Health Res. Rev.* 2020, **21**, 1, 69–83.
- Gonellimali F.D., Lin J., Miao W., Xuan J., Charles F., Chen M., Hatab S.R.: Antimicrobial Properties and Mechanism of Action of Some Plant Extracts Against Food Pathogens and Spoilage Microorganisms. *Front. Microbiol.* 2018, **9**, 1639.
- Wernicki A.: The End of the Golden Age of Antibiotics? *J. Vet. Sci. Anim. Husb.* 2013, **1**, e103.
- Witkowska D., Bartyś A., Gamian A.: Defensyny i katelicyny jako naturalne antybiotyki peptydowe. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 2008, **62**, 694–707.
- Zamojska D., Nowak A., Nowak I., Macierzyńska-Piotrowska E.: Probiotics and Postbiotics as Substitutes of Antibiotics in Farm Animals: A Review. *Animals (Basel)*. 2021, **11**, 3431.
- Lee N-Y., Ko W-Ch., Hsueh P-R.: Nanoparticles in the Treatment of Infections Caused by Multidrug-Resistant Organisms. *Front. Pharmacol.* 2019, **10**, 1153.
- Wernicki A., Puchalski A., Urban-Chmiel R., Dec M., Stęgińska D., Dudzic A., Wójcik A.: Antimicrobial properties of gold, silver, copper and platinum nanoparticles against selected microorganisms isolated from cases of mastitis in cattle. *Med. Weter.* 2014, **70**, 564–567.
- Twort F.W.: An investigation on the nature of ultramicroscopic viruses. *Lancet* 1915, **186**, 1241–1243
- d'Herelle F.: Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysentériques. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences Paris.* 1917, **165**, 173–175.
- Hankin M.E.: L'action bactéricide des eaux de la Jumma et du Gange sur le vibron du choléra. *Annales de l'Inst Pasteur.* 1896, **10**, 511–523.
- Bruynoghe R.A.J.M., Maisin J.: Essais de thérapeutique au moyen du bacteriophage. *C. R. Soc. Biol.* 1921, **85**, 1120–1121.
- Rusca H.: Die Sichtbarmachung der bacteriophagen Lyse im Übermikroskop. *Naturwissenschaften.* 1940, **28**, 45–46.
- Alomari M.M.M., Dec M., Urban-Chmiel R.: Bacteriophages as an Alternative Method for Control of Zoonotic and Foodborne Pathogens. *Viruses.* 2021, **13**, 2348.

Dr Ewelina Pyzik, e-mail: ewelina.pyzik@up.lublin.pl