

(cell maintenance) media for the obtainment of diagnostic cholera TEPV-1-7 bacteriophage dry preparations. Determined are physical-chemical properties of lyophilized bacteriophages, estimated is their diagnostic value, established is the shelf life limit.

УДК 578.81

БАКТЕРИОФАГИ В РОССИИ: ПРОШЛОЕ, НАСТОЯЩЕЕ И БУДУЩЕЕ

Алешкин В.А., доктор биологических наук, профессор, (495)452-18-16, info@gabrich.com

Алешкин А.В., доктор биологических наук, (495)452-18-16, ava@gabri.ru

С.С. Афанасьев, доктор медицинских наук, профессор, (495)452-18-16, info@gabrich.com

ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора

Ключевые слова: бактериофаги, фаготерапия, фагопрофилактика.

Все большее распространение получают штаммы патогенных бактерий, характеризующиеся высокой термостабильностью, устойчивостью ко многим современным антибиотикам и дезинфицирующим средствам, способные вызывать спорадические случаи и вспышки госпитальной инфекции с высоким уровнем смертности среди пациентов. В этой ситуации, пользуясь накопленным в России многолетним опытом, логично предложить открытый для всего мира заново класс антибактериальных средств на основе бактериофагов. С 1930-х годов на всей территории бывшего Советского Союза врачи начали применять бактериофаги для профилактики и лечения инфекционных заболеваний у людей. Позже, в сороковые годы двадцатого столетия на базе четырех институтов вакцин и сывороток (в Уфе, Тбилиси, Нижнем Новгороде и Перми) было организовано производство свыше десятка наименований лекарственных средств как на основе отдельных видов бактериофагов, так и их комбинаций для лечения и профилактики острых кишечных инфекций, а также против возбудителей ряда гнойно-воспалительных инфекций. В настоящее время в Российской Федерации бактериофаги используются не только в качестве природных антимикробных агентов для борьбы с бактериальными инфекциями у людей, животных и сельскохозяйственных культур, но и в составе санитарно-гигиенических мероприятий в пищевой промышленности, сфере общественного питания, в детских и воинских коллективах, а также лечебно-профилактических учреждениях. Ученые во всем мире могли бы использовать накопленный в России опыт при планировании будущих исследований по бактериофагам.

Во время Первой мировой войны среди ученых-микробиологов распространилась сенсационная новость, что Феликс д'Эрель открыл вирусы, «пожирающие бактерии», и что ему удалось разработать фаговые препараты для лечения солдат, заразившихся дизентерией [1]. Врачи во всем мире были воодушевлены этим известием, особенно потому, что сообщения, опубликованные в медицинских журналах, указывали, что вирусы-бактериофаги безвредны для людей и животных и могут успешно использоваться как терапевтические средства [2].

В действительности история бактериофагов началась задолго до этого сообщения. В 1896 английский бактериолог Эрнест Хэнбери Хэнкин попытался подсчитать число бактерий *Vibrio cholera* в 1 мл воды, взятой из реки Ганг. Забор образцов производился в 2-х местах: где река входила в город Агра и где выходила из него. К своему удивлению Хэнкин обнаружил, что

в 1 мл воды на входе в город содержится 100 000 бактерий, в то время как на выходе из города их число уменьшалось до 90. Странное самоочищение воды в Ганге в то время не нашло своего объяснения и получило название «феномен Хэнкина» [3].

В конце девятнадцатого века Н.Ф. Гамалея опубликовал статью, в которой описал внезапное разрушение *Bacillus anthracis* в дистиллированной воде, после чего эта жидкость приобрела способность лизировать свежие культуры сибиреязвенной бациллы. Он предположил, что бактерии при распаде образуют бактериолизин, который специфически действует на такие же бактерии, вызывая их лизис [4].

В 1915 году известный британский журнал *The Lancet* опубликовал статью Ф.Творта о передающемся лизисе бактерий, в которой он описал свои наблюдения о «съеденных краях колоний *Staphylococcus*». Однако Творт не смог объяснить наблюдаемое явление, а дал лишь его описание [5].

В 1917 году молодой грузинский ученый Г.Элиава наблюдал таинственное исчезновение клеток *V. cholera* [6].

Величайшая заслуга Ф. д'Эрелля состояла в том, что он выдвинул идею использования бактериофагов для лечения болезней, причиной которых у людей и животных являются бактерии. За эту идею он заслужил Нобелевскую премию, на которую его выдвигали восемь раз, каждый год, начиная с 1925 года, хотя она так никогда и не была ему присуждена [1]. Д'Эрелль первый применил бактериофаги для лечения дизентерии в детской больнице в Париже в 1919 году под руководством профессора Виктора-Анри Ютинеля. Фаговый препарат предварительно был перорально введен д'Эреллю, Ютинелю и нескольким интернам этой больницы для того, чтобы подтвердить его безопасность перед применением у 12-летнего мальчика с острой дизентерией. Симптомы у пациента прекратились после однократного введения противодизентерийного бактериофага и он полностью выздоровел через несколько дней [7].

Р. Брюноже и Д. Мэйсин в 1921 году впервые использовали бактериофаги для лечения стафилококковых инфекций кожи. Авторы сообщали, что бактериофаги, введенные непосредственно в открытые хирургические раны, инициировали процесс выздоровления через 24-48 часов [8].

Первые попытки использования холерных бактериофагов для лечения и профилактики этой инфекции были сделаны Ф. д'Эреллем и Г.Элиавой в 1931 году в СССР. После чего Тбилисский НИИ вакцин и сывороток начал производить первый в России коммерческий фаговый препарат против холеры, который, как сообщалось, успешно использовался для борьбы с эпидемиями, угрожавшими юго-восточным территориям СССР [8]. В то же время создаются два промышленных центра в Индии для производства противохолерных бактериофагов, применение которых в этой стране позволило сократить смертность от данной инфекции до 10% [9]. В этом же источнике упоминается о создании в 1931 году и коммерческой лаборатории д'Эрелля в Париже, которая изготавливала, пять наименований фаговых препаратов против различных бактериальных инфекций: *Bacte'-coli-phage*, *Bacte'-rhino-phage*, *Bacte'-intesti-phage*, *Bacte'-ruo-phage*, and *Bacte'-staphy-phage*. Эти препараты поставлялись на рынок французской компанией Лореаль. Институт Освальдо Крус в Рио-де-Жанейро, Бразилия начал производство противодизентерийных бактериофагов в 1924 году для того, чтобы использовать их в борьбе с дизентерией в странах Латинской Америки [9]. В 1940-ые годы семь лечебных бактериофаговых препаратов против стафилококков, стрептококков, эшерихий коли и других патогенных бактерий также производились в США компанией Эли Лилли [2].

Клинические данные по эффективности бактериофаговых препаратов, производимых этими предприятиями, были противоречивыми [7]. Это могло быть вызвано как низкой концентрацией или полным отсутствием фаговых частиц в готовых препаратах, так и узким

спектром их литической активности. В результате, с появлением антибиотиков коммерческое производство лечебных фагов прекратилось в большинстве западных стран, несмотря на предварительные многообещающие результаты фаготерапии. В Советском Союзе этого не произошло. Наоборот зародившееся в Институте бактериологии (позднее НИИ вакцин и сывороток), организованном д'Эреллти и Г.Элиавой в Тбилиси, массовое производство бактериофагов, получило свое развитие на других научно-исследовательских базах СССР. В Москве в 1930-ые годы крупномасштабный выпуск бактериофагов был организован на базе НИИ вакцин и сывороток им. Мечникова, из московских штаммов в Ленинградском НИИ вакцин и сывороток также было налажено производство противодизентерийного и ряда других препаратов, позднее серийный выпуск бактериофагов активных против стафилококка, стрептококка, синегнойной палочки, протей и ряда других энтеропатогенных бактерий появился в Уфе, Нижнем Новгороде, Хабаровске и Перми, где были задействованы сотни специалистов, выпускавшие по несколько тон жидких фаговых препаратов в день.

Широкомасштабные испытания, связанные с фаговой терапией, активно проводились в 1930-1940-ые годы в Грузии, России, Украине, Белоруссии, Азербайджане и других республиках, входивших в то время в Советский Союз. Экспериментальные серии фаговых препаратов, против бактерий, относящихся к видам *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Escherichia coli* и *Proteus* прошли испытания в конце 1930-х годов в хирургических и гинекологических клиниках Москвы. Исследования, проведенные в Остроумовской больнице Кокиным и его коллегами, доложенные на конференциях, проходивших в 1940 году, привели к разработке инструкций по внутримышечному и внутривенному применению фагов, что было необходимо в случаях терапии системной инфекции, развивавшейся как последствие хирургических вмешательств и боевых ранений [10]. Эти методы были одобрены Главным санитарным управлением Красной Армии и применялись для лечения солдат в ходе советско-финской кампании 1939-1940 годов и Великой Отечественной Войне. Крестникова в 1947 году обобщила данные, полученные независимыми бригадами военных врачей – профилактическая обработка ран фаговыми смесями против анаэробных бактерий снижала в среднем на 30% число случаев газовой гангрены у раненых солдат [10]. В 1938 году видный советский хирург Бурденко также рекомендовал использовать бактериофаги против гнойных инфекций [11].

Война и потребность в антибактериальных препаратах заставила советских врачей проводить все новые испытания с фагами и разрабатывать современные методы их применения. Так, в 1941 году Александр Цулукидзе, обобщая результаты полученные во время финской кампании по использованию у раненных солдат смеси фагов активных против стрептококка, стафилококка и *S. perfringens*, предложил стратегию борьбы с анаэробными инфекциями заключавшуюся в совместном применении фаготерапии и противогангренозной сыворотки [12]. Он предположил, что фаги лизируют бактерии, вызывающие инфекцию, а сыворотка нейтрализует их токсины.

Каплан в 1941 году, а позднее Карпов и Яворская (1949) разрабатывали стратегию фаготерапии и фагопрофилактики при пероральном приеме препаратов. Они продемонстрировали выживаемость бактериофагов в организме человека и животных в течение максимум 10 дней от момента их введения с постепенным снижением их титра после полной элиминации бактерии-хозяина, кроме того, на модели лабораторных мышей ими был подтвержден высокий профилактический эффект перорального приема сальмонеллезных бактериофагов [13, 14].

Одно из наиболее масштабных клинических испытаний лечебного эффекта дизентерийных фагов было проведено Сапиром [15]. Всего автором описано 1064 случая лечения дизентерии бактериофагами в двух больницах Москвы. Группа пациентов включала 767 мужчин и 297 женщин в возрасте от новорожденных до 79 лет. В каждой возрастной группе применя-

лась стандартная фаготерапия с использованием дизентерийного бактериофагового препарата, разработанного Московским Институтом вакцин и сывороток им. Мечникова. Автор отмечал, что после первого дня лечения фагами количество пациентов с кровавым стулом уменьшилось со 100 до 74 человек; на 5 день фаготерапии только 4 пациента продолжали страдать этим синдромом, а через неделю – 95% пациентов не обнаруживали патологических симптомов и могли быть выписаны из больницы.

С появлением антибиотиков учение о бактериофагах подверглось значительной эволюции и начало превращаться из проблемы медицинской и ветеринарной в общебиологическую дисциплину – фаги считались наиболее удобными объектами вирусологических и генетических исследований. В 1960-80-е годы тема исследования бактериофагов продолжала активно развиваться в СССР, несмотря на достаточно скептическое отношение к ней многих западных ученых. По данному направлению работали такие известные исследователи как Тимаков, Жуков-Вережников, Гольдфарб, Раутенштейн, Тихоненко, Ревенко, Крылов и другие [16-20]. В нашей стране не прекращалось практическое применение бактериофаговых препаратов, в частности они широко использовались с профилактической целью в регионах эндемичных по инфекционным заболеваниям, а также в организованных коллективах, таких как ясли, детские сады, школы и армейские казармы где могли происходить быстрые вспышки инфекций [21-25]. Развитие новых представлений в конце XX начале XXI века как о молекулярной биологии, так и об экологических взаимоотношениях бактериофагов и их хозяев, а также все более широкое распространение в биосфере антибиотикорезистентных микроорганизмов, актуализировали своего рода второе рождение вирусов бактерий. Существенно возросшее количество персистирующих антибиотикорезистентных патогенных и условно-патогенных штаммов бактерий, утяжеляющих клиническое течение патологических состояний и существенно ухудшающих показатели инфекционной заболеваемости во многих странах мира, связано как с бесконтрольным использованием антибиотиков при самолечении и профилактики нозокомиальных инфекций, так и с массовым применением консервантов и бактерицидных препаратов в пищевой промышленности и сельском хозяйстве. Улучшение качества медицинской помощи инфекционным больным, а также переход на потребление экологически чистых не обработанных антибактериальными средствами продуктов питания подразумевает поиск новых и возрождение известных ранее форм и методов лечения инфекционных заболеваний, способов деконтаминации инструментария и помещений ЛПУ, а также консервации пищевой продукции.

В июне 2011 Ученым Советом Роспотребнадзора по инициативе 2-х ведущих научно-исследовательских институтов ГНЦ ПМБ (п. Оболенск) и МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского было принято решение о разработке новых средств профилактики пищевых инфекций на основе бактериофагов, успешно завершившееся созданием специализированного продукта диетического (профилактического) питания для применения декретированными группами населения в период повышения риска заболеваемости острыми кишечными инфекциями и в соответствии с рекомендациями по организации противоэпидемических мероприятий. В рамках принятых Роспотребнадзором решений этими научными центрами продолжается конструирование деконтаминационных фагосодержащих средств для обработки мясных и рыбных полуфабрикатов перед вакуумной упаковкой и длительным хранением, а также в сотрудничестве с клиницистами разрабатывается комплекс мероприятий по фагопрофилактике госпитальных инфекций, вызванных антибиотикорезистентными штаммами клебсиеллы, ацинетобактера и синегнойной палочки.

Библиографический список

1. Hausler, T. Viruses vs. Superbugs//MacMillan, New York, 2008.
2. Sulakvelidze, A., Alavidze, Z., and Morris, J. G., Jr. Bacteriophage Therapy// Antimicrob. Agents Chemother, 2001, Vol. 45, pp. 649-659.
3. Adhya, S., and Merrill, C. The road to phage therapy// Nature, 2006, Vol. 443, pp. 754-755.
4. Гамалея Н.Ф. Бактериолизины – ферменты, разрушающие бактерии// Русский архив патологии, 1898, т.6 (№6), С. 607-613.
5. Twort, F. An investigation on the nature of ultramicroscopic viruses// Lancet 1915, Vol.11, p.1241.
6. Георгадзе И.А., Макашвили Е.Г. Георгий Элиава// Грузинская советская энциклопедия, 1979, т. 4, С. 125.
7. Summers, W. C. Felix d’Herelle and the Origins of Molecular Biology// Yale University-Press, New Haven, CT, 1999.
8. Кажал Н., Ифтимович Р. Из истории борьбы против микробов и вирусов//Научное из-во, Бухарест, 1968, 404 с.
9. Д’Эрелль Ф. Бактериофаг и феномен выздоровления// Тифлис. гос. Ун-т, Тифлис, 1935, 262 с.
10. Крестовникова В.А. Фаготерапия и фагопрофилактика и их обоснование в работах советских исследователей// ЖМЭИ, 1947, №11, С. 56-65.
11. Шкроб О.С. Академик Николай Нилович Бурденко (к 125-летию со дня рождения)// Хирургия, 2001, №5, С. 61-63.
12. Цулукидзе А.П. К методике применения бактериофага в хирургической практике// Вестн. хир., 1941, №6, С. 679-685.
13. Каплан А.С. Распределение и сохранение дизентерийного поливалентного бактериофага в организме белых мышей после однократного кормления// ЖМЭИ, 1941, №5-6, С. 162.
14. Карпов С.П., Яворская Б.М. Динамика выделения бактериофага из организма фагированных людей// ЖМЭИ, 1949, №7, С. 40-42.
15. Сапир И.Б. Наблюдения и замечания по поводу лечения дизентерии бактериофагом// Труды Московского областного института инфекционных болезней, М., 1939, С.135-151.
16. Гольдфарб Д.М. Бактериофагия/Под ред. Тимакова В.Д.// М.:Медгиз, 1961, 299 с.
17. Раутенштейн Я.И. Бактериофагия// М.: Из-во АН СССР, 1955.
18. Жуков-Вережников Н. Н. Перемитина Л.Д., Берило Э.А. и др. Изучение терапевтического эффекта препаратов бактериофага в комплексном лечении гнойных хирургических заболеваний// Советская медицина, 1978, № 12, С. 64-66.
19. Ревенко И.П. Бактериофаги и их использование в ветеринарной практике// Киев: Урожай, 1978, 88 с.
20. Крылов В.Н. Фаготерапия с точки зрения генетики бактериофага// Генетика, 2001, Т. 37, №7, С. 869–887.
21. Бабалова Г.Г., Кацитадзе К.Т., Сакварелидзе Л.А. и др. О профилактическом значении дизентерийного сухого бактериофага// ЖМЭИ, 1968, №2, С. 143-145.
22. Погорельская С.А. Опыт широкого применения бактериофагов с целью профилактики острых кишечных заболеваний// ЖМЭИ, 1968, №4, С.34-37.
23. Солодовников Ю.П., Павлова Л.И., Емельянов П.И. и др. Профилактическое применение сухого поливалентного бактериофага с пектином в дошкольных учреждениях// ЖМЭИ, 1970, №5, С. 131-137.
24. Агафонов В.И., Хохлов Д.Т., Золочевский М.А. Эпидемиология тифо-паратифоз-

ных инфекций и их профилактика в войсках// Военно-медицинский журнал, 1984, №6, С. 36-39.

25. Анпилов Л.И., Прокудин А.А. Профилактическая эффективность сухого поливалентного дизентерийного бактериофага в организованных коллективах// Военно-медицинский журнал, 1984, №5, С. 39-40.

BACTERIOPHAGES IN RUSSIA: PAST, PRESENT AND FUTURE

Aleshkin V.A., Aleshkin A.V., Afanas'ev S.S.

Key words: *bacteriophages, phage therapy, phage prophylaxis.*

The more prevalent bacterial strains increasing in numbers are those with high thermostability, resistant to many present-day antibiotics and disinfectants, those which are capable to cause hospital infective episodes with high mortality incidence among patients. In this situation using the accumulated Russian experience it is logical to propose the development in a world of a renewed class of antibacterial agents based on bacteriophages. Since 1930s in different part of the Soviet Union a lot of doctors began to use phages in human prophylaxis and therapy. Later In the 1940s four Institutes for Vaccines and Sera (in Ufa, Tbilisi, Nizhnii Novgorod, and Perm') began to produce a dozen medicinal compounds based on several individual species of bacteriophages or their combinations which are used to treat and prevent acute intestinal infections and to control causative agents of certain pyoinflammatory infections. In recent years in the Russian Federation phages are used not only as natural antimicrobial agents to fight against bacterial infections in humans, animals and agricultural plants, but also they are used in conjunction with sanitary and hygienic activities in food industry, public catering, children's collectives, military units and hospitals. Therefore, world scientists should not neglect these clinical results when designing any future studies.

УДК. 576.858.9+616.936.49:598.2/9

ВЫДЕЛЕНИЕ НОВЫХ БАКТЕРИОФАГОВ, ПРИГОДНЫХ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ АКТУАЛЬНЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ НА ПТИЦЕФАБРИКАХ

*Андреева И.С., к.б.н., ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»,
тел. 8(383) 363-47-79, andreeva_IS@vector.nsc.ru;*

*Афонюшкин В.Н., к.б.н., ИХБФМ СО РАН,
тел. 8 923 117 64 61, lisocim@mail.ru;*

*Соловьянова Н.А., Селиванова М.А., ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»,
тел. 8(383) 363-47-79;*

Зайцев Б.Н., к.ф.-м.н., ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», тел. (383) 336-71-53;

Закабунин А.И., ИХБФМ СО РАН, тел. 89231723193;

*Емельянова Е.К., к.б.н., ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», ГБОУ ВПО НГМУ
Минздравсоцразвития, тел. 89139048741*

Ключевые слова: *Бактериофаги, кишечные инфекции птиц, сальмонеллез, резистентность к антибиотикам*