СНОВА О ФАГОТЕРАПИИ:

ЧТО НЕ ТАК, А ЧТО ТАК?

Прошло чуть более 100 лет после выхода в журнале «Ланцет» статьи английского исследователя и врача Ф. Творта «Исследование природы ультрамикроскопических вирусов» [1]. В ней Творт описал феномен возникновения прозрачных пятен на бактериальном газоне при работе с культурой на чашках Петри. Исследовав эти пятна, он обнаружил в них мертвые бактерии. Пятна обладали свойством повторяться на других чашках, если содержимое пятен перенести на новый газон. Не будучи в состоянии дать убедительное объяснение этому явлению, Творт выдвинул 3 возможные, с его точки зрения, гипотезы: проявление неизвестного прежде жизненного цикла бактерий, действие какого-то энзима, продуцируемого самими бактериями, или присутствие некоего ультрамикроскопического вируса, способного вызывать гибель бактерий. Изложив свои гипотезы, Творт больше не возвращался к этой теме, однако многими считается, что именно с этой статьи начинается эра бактериофагов.

Ключевые слова: бактериофаг, фаготерапия, антибиотики, микробиом.

A.Y. ZURABOV, E.L. ZHILENKOV, PhD in biology, V.M. POPOVA, PhD in medicine
Micromir SPC, Moscow

ONCE MORE ABOUT PHAGE THERAPY: WHAT IS RIGHT, AND WHAT IS NOT

A little more than 100 years ago the article "An investigation on the nature of ultra-microscopic viruses" by the English physician and researcher F. Twort was published in The Lancet. Twort described the phenomenon of transparent spots which occurred on the bacterial lawn when he worked with bacterial cultures using a petri dish. He examined the spots and found zones of dead bacteria. The spots were transmissible: they appeared on other dishes once transferred to a new lawn. Twort, failing to give a convincing explanation for this phenomenon, proposed three hypotheses: it could be an unusual manifestation of the bacterial life cycle, or an enzyme produced by the bacteria themselves or some sort of "ultra-microscopic virus" which could cause the death of bacteria. Having voiced his hypotheses, Twort let the matter drop, but many believe that with the article began the era of bacteriophages.

Keywords: bacteriophage, phage therapy, antibiotics, microbiome.

Полным же отцом бактериофагии по праву считается французский ученый канадского происхождения Ф. Д'Эрель, работа которого с похожими наблюдениями вышла 2 года спустя [2]. В отличие от Творта Д'Эрель был сразу убежден, что обнаружил особый тип вируса, который убивает бактерии, и дал этому вирусу то имя, под которым его теперь знают во всем мире, – бактериофаг. В ознаменование 100-летия открытия бактериофагов ведущий в России производитель фаговых лечебных препаратов – НПО «Микроген» выпустило юбилейное издание книги Д'Эреля «Бактериофаг и феномен выздоровления». Первое издание этой книги на русском языке увидело свет в 1935 г. в издательстве Тифлисского государственного университета, почетным профессором которого был Д'Эрель. Это издание вышло ограниченным тиражом и распространялось только среди специалистов [3].

Энергия и убежденность Д'Эреля привели к тому, что бактериофаги выдвинулись на передний край борьбы с инфекционными заболеваниями. Ими начали лечить все: воспаления среднего уха, носовых пазух, бронхов, легких, мочеполовых органов. Применяли для лечения инфицированных ран, фурункулеза, термических поражений кожи, флегмон, мастита и даже при заражении крови. Появились сообщения о многочисленных успехах при лечении фагами дизентерии, брюшного тифа, холеры,

гнойных инфекций и других заболеваний. Бактериофаги наносились непосредственно на пораженные участки, давались внутрь, применялись в виде аэрозолей и клизм. Позже их стали вводить внутримышечно, внутривенно, в перикард, плевральную полость легких и др. Повальное увлечение фагами происходило на фоне крайне слабого знания как природы и биологии самых фагов, так и особенностей взаимодействия фага с бактериальной клеткой (см., например, Э. Каттер, А. Сулаквелидзе [4]). Приготовление фаговых препаратов больше походило на алхимию, поскольку увидеть сами фаги возможности не было, специфичность фагов была неизвестна, контроль литической активности никак не проводился. По свидетельству самого Д'Эреля, проведенный им однажды анализ 20 препаратов не выявил ни в одном из них присутствие бактериофагов. Неудивительно поэтому, что отдельные положительные результаты перемежались с неудачами, и в последовавшие за открытием два десятилетия бактериофаги постепенно исключались из врачебной практики, а их репутации в качестве антибактериального агента был нанесен серьезный ущерб.

Увлечение фаготерапией окончательно сошло на нет в начале 1940-х гг. Появление пенициллина, а затем и других антибиотиков все более широкого профиля, удобство применения и хорошие результаты, которые они демонстрировали при лечении острых и опасных инфек-

ций, полностью отодвинули бактериофаги на обочину лечебной практики в большинстве стран мира. Бактериофаги остались объектом фундаментальных молекулярно-генетических исследований, и здесь их «послужной список» весьма обширен: именно фаги позволили науке расшифровать первый ген, первый полный РНК-геном, ДНК-геном и многое другое [5].

Одной из немногих стран, где бактериофаги продолжали эпизодически применяться для лечения и профилактики инфекций, был Советский Союз. Советская школа бактериофагии была заложена в 1920-е гг. грузинским ученым Г. Элиавой. Своей увлеченностью фагами он не уступал Д'Эрелю, с которым его связала тесная дружба. Опираясь на поддержку Д'Эреля, Элиава основал в 1923 г. в Тбилиси Институт бактериофага, микробиологии и вирусологии, который стал ведущим в СССР научным центром по вопросам изучения и применения бактериофагов. Постепенно фаговая тематика появилась в портфеле целого ряда советских исследовательских центров, а производство лечебных фаговых препаратов было налажено, помимо Тбилиси, в Уфе, Саратове, Перми, Нижнем Новгороде.

Вместе с тем сказать, что фаготерапия в СССР занимала заметное место в терапевтической практике, объективно нельзя. Как пишет профессор П. Лернер, много лет занимавшийся изучением и применением бактериофагов, в 1960 г. Министерство здравоохранения СССР поручило нескольким научно-исследовательским институтам вынести свой вердикт относительно целесообразности применения фаговых препаратов в лечебной практике. Выводы комиссии были отрицательными. Результатом такого решения стало сворачивание как научных исследований, так и широкого производства фагосодержащих препаратов. Как это часто бывало в нашей стране, исследования и, особенно, применение фагов стали уделом лишь подлинных энтузиастов фаготерапии. Их усилия приводили порой к неплохим результатам при лечении ожоговых и постоперационных онкологических больных, подавлении и предупреждении вспышек внутрибольничных инфекций в некоторых ЛПУ, дизентерии и иных кишечных дисбиотических состояний. Однако все эти результаты носили одиночный, эпизодический характер, и, помимо помощи конкретным больным, они не поставляли убедительных данных в соответствии с канонами так называемой доказательной медицины. Именно поэтому в зарубежной литературе повсеместно признается важная роль СССР и затем России в развитии фаготерапии, но отсутствие убедительных научных результатов дает возможность сделать только один (но важный) вывод из этой практики: никаких серьезных сообщений о побочных эффектах и иных негативных последствиях применения бактериофагов зафиксировано не было.

Одним из самых интересных, с нашей точки зрения, результатов применения бактериофагов в СССР был опыт профилактики вспышек дизентерии в Узбекистане (тогда УзССР). Особую значимость и актуальность примененному под руководством П.М. Лернера и Р.Ф. Джалаловой [26] подходу придает то, что целью работы была разработка

комплекса мероприятий, при помощи которого можно было достичь обезвреживания явных и потенциальных источников инфекции и предупредить возникновение новых заболеваний посредством систематической фагопрофилактики эпидемиологически значимых контингентов и фаготерапии больных дизентерией. В процессе работы использовался оригинальный прием – выключение из эпидемического процесса отдельных контингентов, что, в частности, позволило установить удельный вес дизентерии в сумме острых кишечных инфекций, эпидемиологическую роль детей различного возраста как источника инфекции и т.д. Указанная работа проводилась в течение 17 лет и привела к снижению заболеваемости дизентерией и другими острыми кишечными заболеваниями в десятки (!) раз. Эти результаты были получены при проведении фагопрофилактики среди весьма ограниченного, правильно отобранного (эпидемиологически значимого) населения, численность которого составляла всего 7% от численности населенного пункта.

Начало XXI в. было отмечено колоссальным качественным скачком в методах и средствах молекулярно-генетических исследований. Будучи самым простым (хотя совсем не простым) объектом для изучения, бактериофаг продолжает привлекать интерес ученых. Если за период 1917–1965 гг. было опубликовано 11 405 работ, посвященных бактериофагам, то за период 1965–2000 гг. их количество возросло до 33 000, а за последние 15 лет эта цифра едва ли не удвоилась. Так, например, одним из наиболее интересных результатов последних лет стало выявление и описание так называемой CRISPR/cas-системы – своего рода иммунной системы у прокариотических клеток, с помощью которой бактерия в состоянии запоминать историю своей прежней встречи с фагом и разрушать его генетический материал, защищая от фага данного вида свои последующие поколения. По мнению многих специалистов, открытие этого механизма сулит колоссальные возможности для направленного мутагенеза и редактирования генома в любых клетках – от дрожжей до млекопитающих. И поблагодарить за эти новые возможности надо в очередной раз бактериофаг!

А что же фаготерапия? Появились ли у нее шансы вернуться в арсенал терапевтов уже на новом уровне знаний о бактериофагах?

К сожалению, пока говорить об этом рано. В начале 2000-х гг. была зафиксирована вспышка интереса к фаготерапии, которая была порождена нарастающим пониманием проблемы антибиотикорезистентности бактерий. В 2001 г. ВОЗ официально объявила о закате эры антибиотиков и переходе человечества в постантибиотическую эру, когда «царапина на коленке ребенка может привести к его смерти из-за невозможности остановить простейшую инфекцию». Работами в области разработки и регистрации фагосодержащих препаратов начали заниматься в десятках стран мира. Последний крупный конгресс по фаготерапии, проводившийся в июне 2016 г. в Париже, собрал около 200 ученых и представителей бизнеса из более чем 30 стран со всех континентов.

Вместе с тем колоссальные усилия ученых так и не привели пока к выходу на мировой рынок лекарственных средств хотя бы одного фагового препарата, кроме России. Если постараться выделить главную причину «неубедительности» фаготерапии, то она состоит том, что от фагов ждут того, чего те не могут дать, и не пользуются тем, что фаги делают прекрасно. Бактериофаги – это создания Природы, главное предназначение которых состоит в регулировании численности бактерий. Природа не может допустить, чтобы какое-то из ее созданий имело возможность неограниченного размножения, что привело бы к тотальному доминированию этого создания на Земле. Исследования бактериофагов в естественных природных условиях (в морской воде, почве и т. п.) показывают, что там, где в 1 мл содержится порядка 10^6 бактериальных клеток, количество бактериофагов будет не ниже 10^7 (см., например, К. Ашельфорд и др. [22]). Если бактерии в этом объеме представлены 10–50 различными видами, то видов фагов уже будет от 100 до 300 [6]. Численность фагов превышает численность бактерий на 1–2 порядка в силу того, что у каждого бактериального штамма существует до 10 различных фагов, способных его лизировать [7, 8]. Количественные оценки влияния бактериофагов на бактериальную популяцию показывают, что порядка 15% всех бактерий на Земле ежедневно погибают в результате фаголизиса. Общее количество бактериофагов на планете оценивается в гигантскую величину 10^{30} – это, по-видимому, самый многочисленный среди известных науке видов микроорганизмов на Земле.

Если за 100 лет человечество не нашло применения тому, что доказало свою эффективность в предшествующие 3,5 млрд лет, то, может быть, следует вернуться к рассмотрению основных постулатов антимикробной терапии, которые были заложены Э. Кохом и считались незыблемыми на протяжении всего XX в.? Можно напомнить, что еще в 1962 г. один из крупнейших советских клиницистов, председатель Всесоюзного общества патологоанатомов И.В. Давыдовский писал: «Вера в «инфекцию» как абсолютно внешнюю силу заслонила изучение динамики микробиологических по существу своему адаптационных процессов внутри и на поверхности тела, а между тем в этой динамике, отличной у разных видов и индивидуумов, фактически и скрывается источник познания многочисленных инфекционных процессов, в том числе и экзогенного происхождения» [10]. Огромный объем новых данных о микробиоме человека, полученных в начале XXI в., дает все основания вновь поставить вопрос о необходимости изменения всей парадигмы лечения инфекционных заболеваний. Тот же Давыдовский называл анахронизмом положение о том, что «инфекционные заболевания являются следствием проникновения микробов в макроорганизм», т. к. главная масса таких «проникновений» проходила клинически бесследно, а биологически они лишь укрепляли здоровье человека, его иммунитет. Коллекции стрептококков при ангинах, скарлатине, как и коллекции кишечных палочек, включая близкие к ним штаммы при энтероколитах, диспепсиях и т. д., отражают скорее инерцию коллекционеров, чем

научное творчество по изучению подлинной этиологии названных болезней».

Изменение указанной парадигмы должно привести к тому, что главной целью антиинфекционной терапии будет не уничтожение конкретного патогена (который якобы является единственной причиной инфекционного процесса), а восстановление баланса микрофлоры человека в целом или в конкретной области организма. Мощные средства молекулярно-генетического анализа, которые стали доступны ученым в последние 15 лет, продемонстрировали, что с точки зрения микроорганизмов человек (как и любое другое живое существо) представляет собой обычную для них среду обитания. Количество бактерий, которые в каждый момент времени находятся внутри и на поверхности человеческого тела, оценивается величиной порядка 10^{14} , что превышает количество клеток организма в 10 раз, а если к этому добавить другие микроорганизмы (вирусы, грибы, простейшие), то оказывается, что человек представляет собой наиболее плотно колонизированный объект на Земле. В одной из первых работ, посвященных исследованию вирусной популяции в организме человека (вирома), показано, что в каждом миллилитре слюны присутствует до 10^8 вирусных частиц, большая часть которых представляет собой бактериофаги [11]. Нет никаких оснований считать, что взаимодействие фагов и бактерий подчиняется каким-то иным закономерностям внутри человека, нежели вне его. Проводя аналогию с природными соотношениями [12], можно допустить, что порядка 5% бактерий, находящихся в ротовой полости, инфицированы фагами (нравится нам это или нет).

Основная задача эффективной фаготерапии состоит в том, чтобы как можно лучше разобраться в данных закономерностях и использовать эти знания для применения в лечебной практике. В последние несколько лет Научно-производственным центром «Микромир», одним из российских производителей средств с бактериофагами, были проведены десятки клинических исследований и апробаций, специалисты компании приняли участие в большом количестве конференций, общаются с тысячами врачей самых разных специальностей. Ниже предлагаются ответы на самые важные, наиболее часто задаваемые врачами вопросы, касающиеся фаговых препаратов.

Что лучше: моно- или поливалентный препарат?

В соответствии с современным пониманием инфекционного процесса инфекцию определяют как «избыточный рост микроорганизмов, которая в основном эндогенна и полимикробна» [13]. Состав микробиоты инфекционного очага отличается не появлением в нем постороннего инфекта, а изменением количественных пропорций тех же самых бактерий, что и в состоянии здоровья. В динамике инфекции на разных этапах разные бактерии играют ведущую роль, поэтому определение перед началом лечения этиологической причины путем посева на чашки на искусственных питательных средах будет, мягко говоря, неточным [13]. В практическом плане это противоречие между ограниченной точ-

ностью культуральных методов микробиологической диагностики и реальным микробным пейзажем в очаге инфекции разрешалось врачами без особого труда путем применения антибиотиков, которые обладают способностью уничтожать все бактерии без особого разбора. Неточность микробиологического анализа компенсировалась широким спектром действия антибактериального препарата. Сегодня отношение к универсальному применению антибиотиков начало меняться. Главным движущим мотивом этого изменения является нарастание антибиотикорезистентности, но постепенно приходит понимание того, что, возможно, наибольшим вредом, который способен нанести антибиотик, является нарушение баланса микрофлоры человека. Ученые находят все новые и новые данные, которые говорят о том, что роль микроорганизмов в жизни человека, их влияние на его здоровье невозможно переоценить. Нет такой функции и такой области, в которой их роль не была бы важнейшей и при здоровье, и при заболевании. Все – от формирования иммунитета малыша, его когнитивных способностей до функционирования любого органа или системы у взрослого человека – зависит от присутствия тех или иных микробов, их метаболизма, информационного обмена между собой и с макроорганизмом, и многого другого. Разумеется, когда речь идет о жизненных показаниях, нарушения баланса микрофлоры являются менее значимым фактором, однако большинство антибиотиков выписывается при состояниях, не угрожающих жизни пациента, а до 1/3 – и вообще с профилактическими целями (например, при вирусных инфекциях). Сокращение чрезмерного применения антибиотиков ставит задачу более точного таргетирования бактерий, которые могут быть связаны с инфекцией, и фаги являются идеальными кандидатами, обладая исключительной видоспецифичностью. Вместе с тем понимание полимикробности большинства (если не всех) инфекций требует наличия в препарате достаточного разнообразия бактериофагов для ограничения роста хотя бы основных «участников» микробиоценоза того или иного биотопа.

Не приведет ли применение поливалентного фагового препарата к такому же эффекту, что и применение антибиотика: «лишние» фаги уничтожат бактерии, которые не участвуют в развитии инфекции?

Изучение экологии взаимодействия фага и бактериальной клетки в природных условиях показывает, что бактерии большую часть времени находятся в неактивной, так называемой стационарной фазе, когда метаболизм их замедлен и темп репликации невысок из-за ограниченности питательных ресурсов. Фаги, в т. ч. вирулентные, не проявляют к ним особого интереса [9, 14, 15]. Картина меняется при переходе бактерий в фазу логарифмического роста. Лабораторные эксперименты с тремя фагами позволили установить минимальную концентрацию бактерий для начала процесса фаголизиса – 10^4 /мл [16]. Этот уровень можно считать в качестве среднего ориентира с пониманием того, что в природных

условиях можно наблюдать фаголизис и при более низких концентрациях, но он носит более «мягкий» характер. Пока неизвестно, что же дает сигнал фагам к атаке (возможно, они в состоянии считывать бактериальные сигналы определения кворума), но природный ограничитель численности бактерий срабатывает без осечки. В организме человека и животного происходит то же самое. В работе Чибану-Чинуфи и др. [17] показано, что близость фага и клетки-мишени сама по себе еще недостаточна для начала лизиса. Опыты на мышах продемонстрировали, что бактерия *E. coli* в кишечнике весьма хорошо защищена от вирулентных бактериофагов, введенных перорально. Однако те же фаги прекрасно лизировали эти бактерии, взятые из помета и помещенные в питательную среду в условиях лаборатории. Объяснение этому факту заключается в том, что бактерии, находящиеся в просвете кишечника, фактически лишены питательных веществ и потому метаболически неактивны. Основное питание поступает тем бактериям, которые находятся в муциновом слое, однако они прикрепилась к стенкам, образовали микроколонию, защитились биопленкой и стали практически недоступны для фагов.

Разве бактерии не вырабатывают фагорезистентность подобно тому, как они вырабатывают антибиотикорезистентность?

Действительно, бактерии проявляют завидную изобретательность в стремлении избежать «дамоклова

ШИРОКО ПРЕДСТАВЛЕНЫ В АПТЕКАХ РОССИИ

ОТОФАГ: антибактериальная защита ЛОР-органов
ФАГОДЕНТ: антибактериальная защита полости рта
ФАГОДЕРМ: антибактериальная защита кожи и мягких тканей
ФАГОГИН: антибактериальная защита интимной сферы

НПЦ «Микромир»

Интернет-магазин: vitabio.ru 8 800 500 63 70 звонки из России
www.micro-world.ru 8 495 625 27 57 звонки из Москвы

НЕ ЯВЛЯЕТСЯ ЛЕКАРСТВЕННЫМ СРЕДСТВОМ. ПЕРЕД ПРИМЕНЕНИЕМ НЕОБХОДИМО ОЗНАКОМИТЬСЯ С ИНСТРУКЦИЕЙ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Рисунок 1. Лаборатории НПЦ «Микромир»

меча» бактериофагов. В ряде работ Дж. Самсон и др. [18], Д. Рахуда и др. [23], Н. Хойланд-Крогшбо и др. [24], К. Стаммейер и др. [25] подробно описывается более десяти уже известных науке приемов защиты бактерий от фагов: от простейших, когда с мембраны бактерии исчезает рецепторный белок, на который обычно садится фаг, до весьма сложных, подобных упомянутому выше механизму CRISPR/cas. И при этом исследователи показывают, что на каждый такой прием бактериофаг находит свой ответ, преодолевающий самую изощренную защиту. За 4 млрд лет совместного пребывания на Земле фагов и бактерий этого не произошло, и можно быть уверенным, что и не произойдет. Это равные игроки, и у них один тренер – Природа со своими законами равновесия и естественного отбора. Есть еще одно принципиальное отличие антибиотикорезистентности от фагорезистентности. Антибиотики для бактерий – это фактор окружающей среды, который представляет коллективную угрозу их существованию. В ответ на эту общую угрозу бактерии вырабатывают также коллективные механизмы защиты. Выработав резистентность, бактерия активно и охотно делится этим умением со всеми окружающими бактериями (а не только передает это умение потомству). Установлено, что патогенные бактерии могут приобретать гены антибиотикорезистентности от бактерий нормофлоры через механизмы горизонтального переноса генов в течение одних суток. В отличие от антибиотиков фаги не представляют общей угрозы для всей бактериальной популяции, и сопротивление им является частным делом конкретного штамма.

Известно, что фаги ответственны за трансдукцию, т. е. перенос генов между бактериями, в т. ч. и генов токсичности, наличие которых у бактерий представляет угрозу для макроорганизма. Насколько реальна такая угроза при фаготерапии?

Действительно, бактериофаги активно участвуют в генетическом обмене между бактериями (см., например, Ф. Бушман [19]). Однако применительно к фаготерапии необходимо иметь в виду следующее:

- во-первых, генетически значимый трансдукционный перенос генов в популяциях бактерий осуществляют так называемые «умеренные фаги», т. е. фаги, которые не лизируют бактериальную клетку, но встраивают фрагмент своего генома в геном клетки «до лучших времен». Поэтому, принципиально важно проверять фаги – кандидаты в препарат на литическую активность и исключать из состава умеренные фаги. Строго вирулентный фаг не может передать никакой информации в клетку, которая в результате лизиса полностью уничтожается;

- во-вторых, в работе Дж. Самсон [18] показано, что в оптимальных лабораторных условиях явление трансдукции наблюдается в среднем 1 раз на каждые 10^8 фаговых инфекций. *In vivo* частота таких случаев будет, скорее всего, заметно ниже;

- в-третьих, важно понимать, что сама по себе передача гена токсичности не несет в себе какого-либо явного риска для макроорганизма. Выброс токсинов, как сегодня уже понятно, происходит строго координированно со стороны быстрорастущей бактериальной колонии после получения сигнала о наличии в ней необходимой численности (после «опроса кворума»). Появление нескольких клеток с указанными генами не ведет автоматически к развитию опасной инфекции, поскольку наличие токсинов по отношению к организму человека не дает никаких преимуществ этому штамму перед другими бактериями и не ведет к доминированию этого штамма в колонии.

Не влияет ли на эффективность фаготерапии такое явление, как лизогения?

Лизогения – это явление, при котором умеренный бактериофаг встраивает фрагмент своего генома (профаг) в геном бактерии, что часто делает ее устойчивой к другим подобным фагам. Лизогения представляет собой весьма распространенное явление, поскольку является стратегией выживания и для фага, и для бактерии. В ситуации стационарного развития доля лизогенных клеток может быть довольно существенной (в работе Kilic A.O. et al. [20] показано, что до 30% лактобактерий, являющихся

представителями нормофлоры влагалища у здоровых женщин, могут быть лизогенными). Тема лизогении еще недостаточно глубоко изучена и таит в себе много секретов. Группе исследователей [21] удалось выделить низкомолекулярное соединение, которое вырабатывают человеческие клетки эпителия носоглотки и вызывают индукцию (выход) профага из лизогенных клеток бактерии *Streptococcus pyogenes*, часто играющей важную роль в развитии ангины и иных заболеваний ЛОР-области. Этот удивительный факт говорит о существовании тончайших межклеточных взаимодействий внутри микробиома человека, большая часть которых все еще скрыта от нашего знания. В настоящее время можно сказать только следующее: если лизогенные бактерии и обладают резистентностью к фагу определенного типа, то включение в

фаговый коктейль нескольких фагов с различными механизмами адсорбции на бактериальную клетку способно преодолеть указанную резистентность.

Если вернуться к описанному выше успешному опыту применения бактериофагов в Узбекистане, то хотелось бы обратить особое внимание на тот факт, что этому успеху предшествовали грамотная работа эпидемиологов по выявлению основных возможных очагов появления и распространения дизентерии, а также работа «на опережение», т. е. применение бактериофагов в качестве средства профилактики или на раннем этапе возникновения клинических проявлений заболевания. Оказалось, что защита всего 7% населения города, эпидемиологически наиболее предрасположенных к развитию заболевания, дала результат, намного пре-

Рисунок 2. Фаги препарата ФАГОДЕРМ

восходящий результаты борьбы с последствиями. Наши предшественники хорошо понимали, что присутствие фагов в момент, когда возникли условия для активного размножения бактерий, способно без труда остановить этот процесс и сохранить прежний баланс микрофлоры. При этом бактериофаги не в состоянии нанести какого-либо вреда самому макроорганизму, привести к смещению микробного равновесия в том или ином его биотопе.

Разумеется, фаготерапия не должна рассматриваться в качестве панацеи, сменив на этом посту антибиотики. Наоборот, активное замещение фаговыми препаратами антибиотиков в ситуациях, когда применение последних не выглядит обоснованным, позволит резко снизить риск и частоту возникновения антибиотикорезистентности и приведет к сохранению жизни сотням тысяч людей по всему миру, которые сегодня погибают от внутрибольничных инфекций, порожденных резистентными бактериальными штаммами. В клинической практике будет определенное количество ситуаций, в которых антибиотики останутся главным и даже единственным средством лечащего врача, так же как и скальпель хирурга. Представляется важным только (как и в случае со скальпелем), чтобы антибиотики не были препаратами первого выбора, сохранили свои лучшие свойства в качестве средства последней надежды.

В заключение хотелось бы отметить, что концепция экологичного воздействия на микробиом человека для возвращения его в сбалансированное состояние лежит в основе деятельности Научно-производственного центра «Микромир» (рис. 1). Разработка и производство комплексных бактериофаговых препаратов строятся на следующих основных принципах:

- каждое средство включает в себя от 40 до 60 различных бактериофагов против большого количества бактерий, которые обычно участвуют в инфекционных процессах того или иного биотопа (рис. 2);
- против каждого вида бактерии подбираются 3–4 фага с разными механизмами адсорбции на бактериальную клетку с целью уменьшения вероятности присутствия фгорезистентных форм в очаге;
- каждый фаг проверяется на отсутствие взаимодействия с бактериями нормофлоры;
- отбираются только строго вирулентные бактериофаги с высоким выходом фаговых частиц при лизисе;
- каждый из бактериофагов нарабатывается отдельно от других, что позволяет гарантировать его заданный титр в конечном продукте;
- построенная на регулярной основе работа с большим количеством лечебных учреждений по получению клинических материалов позволяет поддерживать высокую степень актуальности как бактериальных штаммов, так и бактериофагов, входящих в препарат;
- обновление состава препарата происходит при выпуске каждой новой партии препаратов компании «Микромир».

НПЦ «Микромир» располагает собственным музеем вирулентных бактериофагов, каждый из которых имеет детальное описание (паспорт), а также обширной коллекцией бактерий 3–4 группы патогенности, к которым и подбираются фаги из природных источников. Взаимодействуя на регулярной основе с десятками лечебных учреждений, специалисты компании постоянно расширяют свои коллекции микроорганизмов, что позволяет поддерживать содержимое препаратов в актуальном состоянии по отношению к циркулирующей в текущий момент бактериальной флоре.

ЛИТЕРАТУРА

- Twort F. An investigation on the nature of ultra-microscopic viruses. *Lancet*, 1915, 186: 4814.
- D'Herelle F. Sur un microbe invisible antagoniste des bacillus dysenterique. *AcadSci Paris*, 1917, 165: 373-375.
- Д'Эрель Ф. Бактериофаг и феномен выздоровления. Тифлис: Изд-во Тифлисского государственного университета, 1935.
- Бактериофаги. Биология и практическое применение. Под ред. Э. Каттер и А. Сулаквелидзе. Пер. с англ. коллектив переводчиков. Науч. ред. А.В. Летаров. М.: Научный мир, 2012.
- Eric C. Keen A century of phage research: Bacteriophages and the shaping of modern biology. *Bioessays*, 2015, 37: 6-9. WILEY Periodicals Inc.
- Wommack KE, Ravel J, Hill RT, Colwell RR. Hybridization analysis of Chesapeake Bay viroplankton. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1999, 65: 241-250.
- Suttle CA. 1994. The significance of viruses to mortality in aquatic microbial communities. *Microb. Ecol.*, 28: 237-243.
- Wiggins BA, Alexander M. Minimum bacterial density for bacteriophage replication: implications for significance of bacteriophages in natural ecosystems. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1985, 49: 19-23.
- Woods DR. Bacteriophage growth on stationary phase *Achromobacter* cells. *J. Gen. Virol.*, 1976, 32: 45-50.
- Давыдовский И.В. Проблема причинности в медицине (этиология). М.: Государственное изд-во медицинской литературы, 1962.
- Pride DT et al. Evidence of a robust resident bacteriophage population revealed through analysis of the human salivary virome. *The ISME Journal*, 2011.
- Ashelford KE, Day MJ, Fry JC. Elevated abundance of bacteriophage infecting bacteria in soil. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003, 69: 285-289.
- Осипов Г.А. Мониторинг инфекции и дизбиозов методом масс-спектрометрии микробных маркеров. Научное издание Всероссийской научно-практической конференции «Новые методы экспресс-диагностики микроорганизмов в медицине, фармации, ветеринарии и экологии». СПб.: Человек и его здоровье, 2015.
- Hennes KP, Simon M. Significance of bacteriophages for controlling bacterioplankton growth in a mesotrophic lake. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1995, 61: 333-340.
- Bratbak G, Haldal M, Thingstad TF, Tuomi P. Dynamics of virus abundance in coastal seawater. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 1996, 19: 263-269.
- Wiggins BA, Alexander M. Minimum bacterial density for bacteriophage replication: implications for significance of bacteriophages in natural ecosystems. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1985, 49: 19-23.
- Chibani-Chennoufi S, Sidoti J, Bruttin A, Kutter E, Sarker SA, Brussow H. Comparison of in vitro and in vivo bacteriolytic activity of *Escherichia coli* phages: implication for phage therapy. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2004.
- Samson JE, Magadan AH, Sabri M, Moineau S. Revenge of the phages: defeating bacterial defenses. *Nature Reviews Microbiology*, 2013 August.
- Bushman F. Lateral DNA transfer. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y. 2002.
- Kilic AO, Pavlova SI, Alpaly S, Kilic SS, Tao L. Comparative study of vaginal *Lactobacillus* phages isolated from women in the United States and Turkey: prevalence, morphology, host range, and DNA homology. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2001, 8: 31-39.
- Broudy TB, Pancholi V, Fischetti VA. The in vitro interaction of *Streptococcus pyogenes* with human pharyngeal cells induces a phage encoded extracellular DNase. *Infect. Immun.*, 2002, 70: 2805-2811.
- Ashelford KE, Day MJ, Fry JC. Elevated abundance of bacteriophage infecting bacteria in soil. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003, 69: 285-289.
- Rakhuba DV, Kolomiets EI, Dey ES, Novik GI. Bacteriophage receptors, mechanisms of phage adsorption and penetration into host cell. *Pol. J. Microbiol.*, 2010, 59: 145-155.
- Hoyland-Kroghsbo NM, Maerkedahl RB, Svenningsen SL. A quorum-sensing-induced bacteriophage defense mechanism. *MBio*, 2013, 4: 00362-12.
- Stummeyer K. et al. Evolution of bacteriophages infecting encapsulated bacteria: lessons from *Escherichia coli* K1-specific phages. *Mol. Microbiol.*, 2006, 60: 1123-1135.
- Лернер П.М. Записки эпидемиолога. Израиль. 2010: 87-95.