

Фаги атакуют

Отечественная история производства и применения бактериофагов

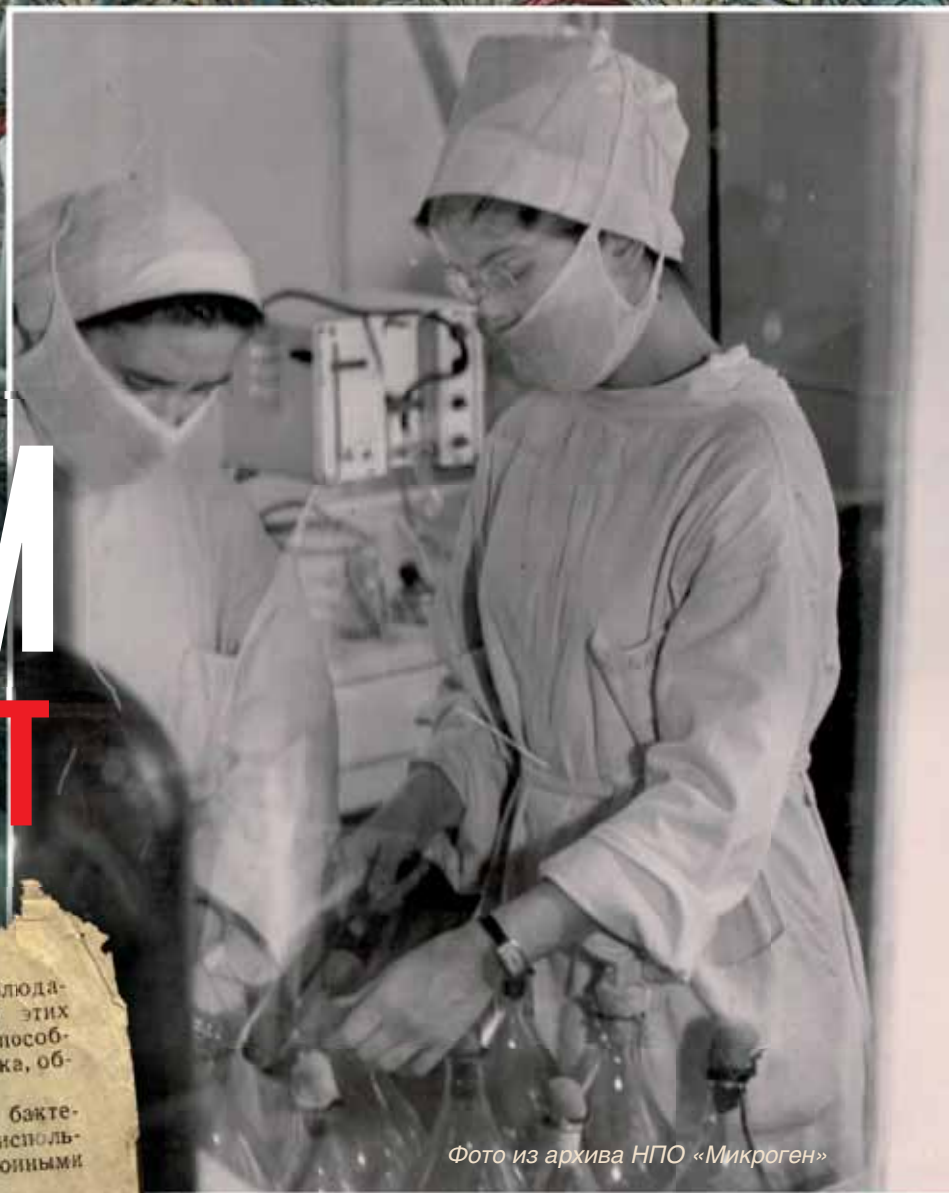


Фото из архива НПО «Микроген»

В нашей стране бактериофаги для нужд медицины производятся и применяются уже почти 80 лет: еще во время Великой Отечественной войны с их помощью удалось спасти жизнь тысячам раненых и предотвратить эпидемию холеры в осажденном Сталинграде перед знаменитой Сталинградской битвой. Появление и широкое распространение антибиотиков практически свело «на нет» производство бактериофагов в мире, поэтому в течение десятилетий СССР оставался единственной страной, где технологии производства фаговых препаратов не только продолжали развиваться, но были поставлены на промышленную основу. И сегодня Россия остается мировым лидером по выпуску и терапевтическому применению этих эффективных и безопасных антибактериальных средств

1942 г.
СТАЛИНГРАД -
БАКТЕРИОФАГИ ПОБЕДИЛИ ХОЛЕРУ

З. В. Ермольева
1898-1971



Благодаря сотрудничеству двух великих ученых-микробиологов – француза Феликса д'Эрелля и грузина Георгия Элиавы – в СССР в 1920-х гг. был создан первый и единственный в мире научно-исследовательский центр бактериофагологии. Несмотря на репрессии, в результате которых его первый директор Г. Г. Элиава был расстрелян, а часть сотрудников отправлены в ссылку, тбилисский Институт бактериофагов выстоял и продолжил свою работу, став ведущим мировым центром терапевтических исследований и производства этих бактериальных «киллеров».

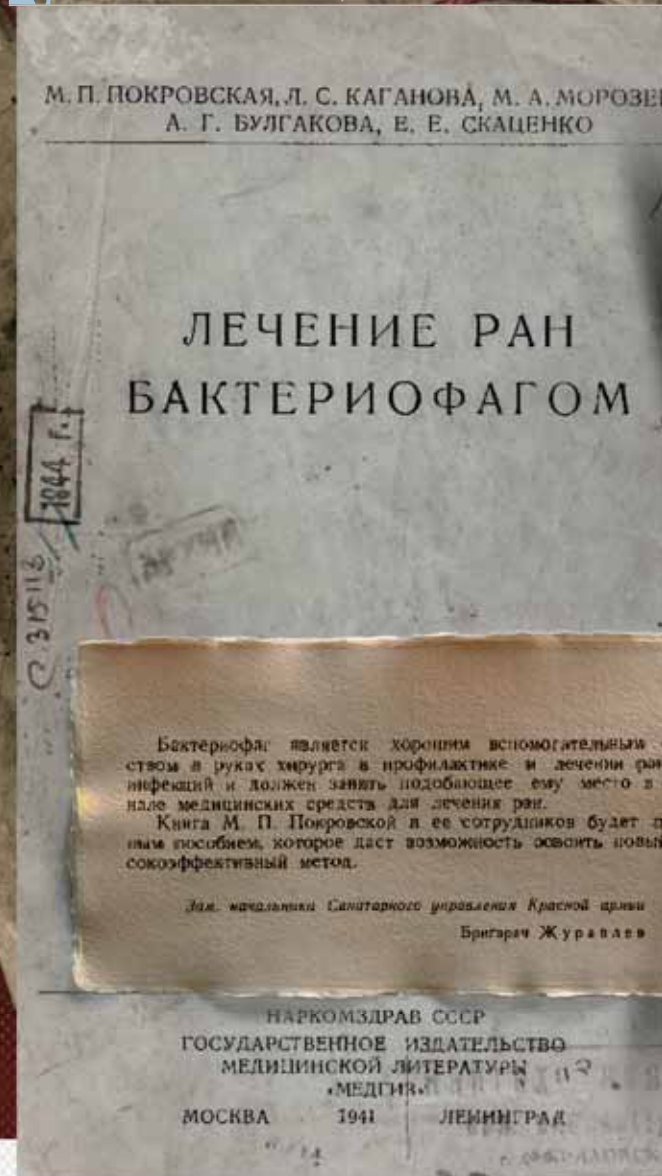
Бактериофаги советского производства были впервые массово использованы в экстренных ситуациях, вызванных вспышками бактериальных инфекций в конце 1930-х гг. Так, в 1938 г. в нескольких районах Афганистана, граничащих с территорией СССР, разразилась эпидемия холеры. Чтобы предупредить распространение этого тяжелейшего бактериального заболевания, было решено использовать на пограничных территориях холерный бактериофаг. Фаговый препарат давали местному населению, добавляли в колодцы и водоемы.

Ключевые слова: фаговая терапия, холерный бактериофаг, лечение ран, Сталинградская битва, НПО «Микроген».
Key words: phage therapy, choleraic bacteriophage, treat for injuries, battle of Stalingrad, Research and Production Association "Microgen"

слева направо:
ПРИСАДА Татьяна Валерьевна – к. м. н., начальник цеха бактериофагов Нижегородского предприятия по производству бактериальных препаратов «ИмБио» (Нижегород), филиала НПО «Микроген»;
ЕФИМОВА Марина Георгиевна – к. м. н., начальник отделения бактериофагов Пермского НПО «Биомед» (Пермь), филиала НПО «Микроген»;
ДАБИЖЕВА Александра Николаевна – к. м. н., начальник отдела маркетинга и продвижения НПО «Микроген» Минздрава России (Москва);
ВОРОШИЛОВА Наталья Николаевна – д. м. н., начальник цеха производства препаратов бактериофагов предприятия «Иммунопрепарат» (Уфа), филиала НПО «Микроген»

В итоге на советской территории не было зарегистрировано ни одного случая заболевания холерой. Но настоящую серьезную проверку бактериофаги прошли во время войны с Финляндией в 1939–1940 гг. Как известно, до открытия антибиотиков вопрос о судьбе раненого во время военных действий часто зависел от того, присоединится ли к ранению инфекция. Комплексная бригада из 11 человек, среди которых были хирурги, бактериологи и лаборанты, начала применять препараты бактериофагов, созданные и произведенные в тбилисском институте для спасения раненых на войне с белофиннами.

© А. Н. Дабиджева, Н. Н. Ворошилова,
Т. В. Присада, М. Г. Ефимова



«Массовое изготовление бактериофага для практических целей требует чрезвычайно большого внимания, тщательности и глубокой теоретической подготовки со стороны бактериолога, организующего данное производство. Выделенные бактериофаги необходимо тщательно изучить, прежде чем пустить в производство. Терапевтическое значение могут иметь только активные бактериофаги, удаивающие число корпускул приблизительно за 10 минут, что является критерием высокой вирулентности данной расы бактериофага. Бактериофаг должен растворять подавляющее большинство штаммов бактерий данного вида, выделенных из самых разнообразных источников и из различных местностей. Бактериофаг должен обладать хорошей жизнеспособностью. Его необходимо выращивать на свежесделанных из организма бактериальных штаммах, наименьшее число раз перевитых на искусственных питательных средах.

Имея в виду значительные отличия индивидуальных свойств различных рас бактериофагов, для терапевтического употребления следует готовить смесь из нескольких вирулентных рас того или иного бактериофага. После изготовления бактериофага необходимо его тщательно проконтролировать. Контроль должен обеспечить высокое качество выпускаемого препарата, его стерильность и полную безвредность при введении в организм. Ампулы, употребляемые для разлива бактериофага, должны быть из лучших сортов стекла, не выделяющих щелочи, иначе со временем pH жидкости изменится, и бактериофаг может погибнуть. При правильном изготовлении бактериофага в производстве, проведенном на самом высоком научном уровне, в руки медицинских работников дается ценнейшее оружие для борьбы с различными инфекционными заболеваниями» (Покровская и др., 1941)

На страницах этого уникального издания был обобщен опыт использования бактериофагов для лечения ран и гнойных инфекций в условиях военно-полевой обстановки во время русско-финской войны 1939—1940 гг. На фото: титульный лист, предисловие и иллюстрация из книги «Лечение ран бактериофагом». М.: НАРКОМЗДРАВ СССР, МЕДГИЗ. 1941

Как выяснилось, при ранении в ткани попадает относительно небольшое количество бактерий, которые легко уничтожаются бактериофагом в первые же часы, пока бактерии еще находятся на раневой поверхности. Раннее начало лечения ран бактериофагом в подавляющем большинстве случаев предупреждало нагноительные процессы в тканях и приводило к быстрому заживлению.

В итоге с помощью стафилококковых и стрептококковых бактериофагов врачам удавалось очистить раны от бактерий более чем в половине случаев, при этом у 30—40% больных была достигнута полная стерилизация раны. Освобождение ран от инфекции с помощью бактериофага позволяло хирургам на неделю раньше наложить швы, ускоряя процесс заживления. Бактериофаги оказались эффективны и при острых воспалительных процессах (флегмонах, тендовагинитах, абсцессах и т. д.), при этом в большинстве случаев лечение было консервативным, без применения обширных разрезов.

Все эти результаты показали, какое огромное значение может иметь профилактика гнойных осложнений в ранах при помощи бактериофагов, которые были не только совершенно безвредным, но и доступным, дешевым, легко изготавливаемым терапевтическим средством.

Бактериофаги – «участники» Сталинградской битвы

Дальнейшая история фаговой терапии с связана с трагическими событиями Великой Отечественной войны 1941—1945 гг. Именно в эти годы, в условиях тотальной нехватки антибактериальных препаратов (на начало войны в СССР еще не было своего пенициллина) было принято решение о налаживании массового производства бактериофагов для лечения инфекций у бойцов Красной Армии.

Особое внимание было направлено на наработку фагов, уничтожающих бактерии, вызывающие кишечные инфекции (холеру, брюшной тиф, дизентерию, сальмонеллез), что было связано с неизбежной

На первых этапах развития промышленного производства фаговых препаратов бактериофаги выращивались в больших стеклянных емкостях – бутылках и трехлитровых «четвертях»

и поэтому время от времени запасы бактериофага нужно повторно проверять, чтобы для практической работы всегда давать только высококачественный препарат.

ПРЕПАРАТЫ БАКТЕРИОФАГА, ПРИМЕНЯЕМЫЕ В ХИРУРГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Для лечения хирургических заболеваний в СССР изготавливаются различные бактериофаги: стафилококковый, стрептококковый, синегнойный, энтерококковый, бактериофаги против кишечной палочки, против возбудителей газовой гангрены и др. Эти бактериофаги употребляются в тех случаях, когда бактериологическое исследование точно установило вид микроорганизма, обуславливающего данный инфекционный процесс. В тех случаях, когда бактериологическое исследование не произведено или процесс вызывается несколькими видами микроорганизмов, д'Эрель предложил применять смеси из бактериофагов, не дожидаясь постановки точного бактериологического диагноза. Смеси бактериофагов дают возможность в практической обстановке применить бактериофаг немедленно. Д'Эрель предлагает в хирургической практике употреблять смесь из стафилококкового, стрептококкового, паракишечного, энтерококкового, протейного и синегнойного бактериофагов. Эту смесь д'Эрель назвал пиофагом.

При применении пиофага в больном организме «работают» (лизируют) только те бактериофаги, которые встретились с соответствующими их литической специфичности бактериями, обуславливающими данное заболевание. Остальные бактериофаги, имеющиеся в смеси, остаются инактивными; никакого вреда организму они не принесут и через некоторый небольшой срок будут выделены из организма.

При отсутствии готового пиофага можно самим сделать смесь из имеющихся в распоряжении хирурга бактериофагов. Желательно составлять смеси таким образом, чтобы не включать в них лишние бактериофаги. Например, бактериологическими исследованиями установлено, что в первые часы после ранения из аэробных микробов в ране чаще всего обнаруживаются стрептококки и стафилококки. Протей и синегнойная палочка появляются в ранах значительно позже. Поэтому лечение свежих ран можно производить смесью из стрептококкового и стафилококкового бактериофагов, не включая в нее протейного и синегнойного. Нужно иметь в виду, что в очень сложных случаях происходит, по нашим наблюдениям, ослабление отдельных компонентов, что снижает лечебные качества препарата. Подробно об этом сказано ниже, в

18

Как показал опыт русско-финской войны, применение бактериофагов для лечения ран давало возможность хирургам на неделю раньше наложить швы, ускоряющие процесс заживления. На фото: страницы из книги «Инструкции по методам хирургического лечения». М.: НАРКОМЗДРАВ СССР, МЕДГИЗ. 1942.

в полевых условиях антисанитарией. Чуть позже в госпиталях стали применять и бактериофаги против раневых инфекций, так хорошо зарекомендовавшие себя во время русско-финской войны. Применение этих препаратов позволяло сократить до недели пребывание раненого солдата в полевом госпитале. Всего же за годы войны предприятия, созданные на базе советских бактериологических институтов, изготовили для фронта более 200 тыс. литров «раневых» бактериофагов!

Но на этих производствах не только выпускались тонны лекарственных препаратов – полным ходом шла научная работа. Дело в том, что питательные микробиологические среды изготавливались на основе мяса, которого в годы войны и так не хватало. Поэтому параллельно производству в краткие сроки проводились научные изыскания по поиску новых сред, которые научились готовить из плаценты, казеина и даже кровяных сгустков.

Именно бактериофаги (а конкретно – холерный бактериофаг) стали одним из залогов успеха знаменитой Сталинградской битвы, решающего сражения Второй мировой войны. Дело в том, что холера всегда была неизбежным спутником воюющих армий: так, еще во время Севастопольской кампании 1854–1955 гг. англо-французские войска потеряли в результате военных действий 73 тыс. человек, а от холеры – 18 тыс.! Под Сталинградом летом 1942 г. холера дала о себе знать на территории, занятой

ЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ БАКТЕРИОФАГА

Мы могли убедиться, что Московский институт имени Мечникова и Тбилисский институт бактериофагии изготавливают препараты высокого качества (табл. 1).

Таблица 1

Лизирующая активность бактериофагов *in vitro* по отношению к микроорганизмам, выделенным из ран (в %)

Вид бактерий	Лизировано	Не лизировано
Гемолитические стафилококки	68,8	31,2
Негемолитические	50	50
Гемолитические стрептококки	84,5	15,5
Протей	50	50
Синегнойная палочка	24	76
Энтерококки	50	50

литической активности бактериофагов сделан на основании исследований. Это дает материал для оценки качества бактериофагов, предназначенных для лечения хирургическими инфекциями. В графе «Лизировано» учтены только случаи полного лизиса. Лизис менее отчетливый на



Эта счетно-фасовочная машина для упаковки препаратов бактериофагов была сконструирована сотрудниками завода в г. Горький (ныне Нижний Новгород)





Утверждаю
Начальник Санитарного управления
Красной армии
врач Е. И. Смирнов
6.VII.1941 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПРИМЕНЕНИЮ БАКТЕРИОФАГА В ХИРУРГИИ

Общие сведения

Препарат бактериофага представляет собой прозрачную массу, содержащую бактериофаг, обладающий способностью уничтожать патогенные микробы. Кроме бактериофага в жидкости содержатся безвредные для организма конечные продукты растворения тех микробов, из которых выделен препарат.

Бактериофаг выпускается в ампулах или герметически закрытых флаконах. На этикетке приводится название бактерии, указывающее, против каких бактерий действует дан-

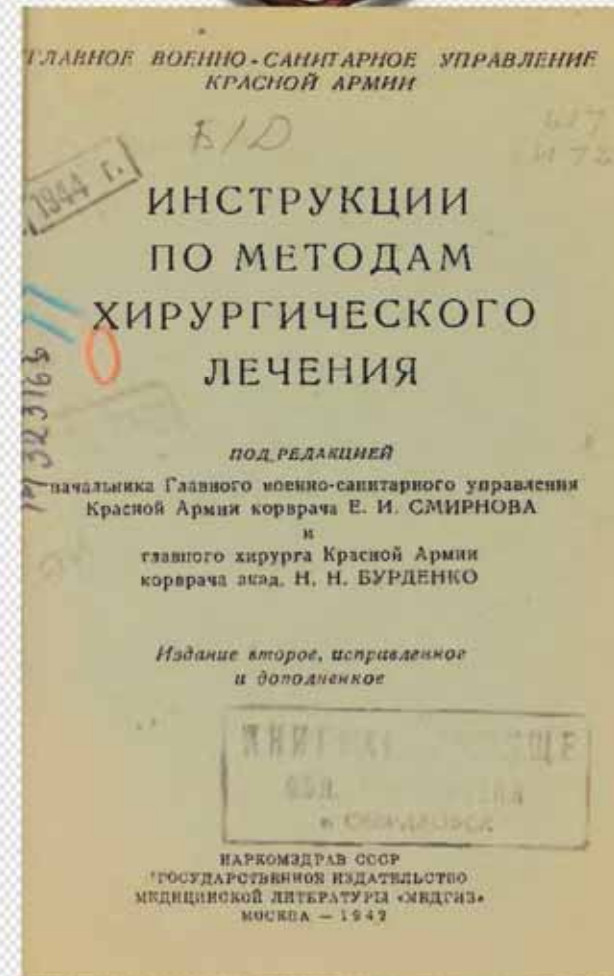
ный препарат для применения в хирургической практике следующие препараты: стафилококковый, протейный, синегнойный, колифаг и бактериофаг 4 возбудителей анаэробной инфекции (бацилла пастереллы, вибрион септик, гистолитикус) как по отдельности.

Выпускается также препарат, называемый «кокцидий» из смеси нескольких бактериофагов. Этот препарат преимущественно стафило- и стрептококки могут входить также протейный, синегнойный и другие фаги. Фаги против возбудителей тифа в состав биофага не входят. Специальное обозначение на этикетке дается на специальных средах, содержащих белок.

Перед употреблением следует убедиться, что ее содержимое должно оставаться

Как свидетельствует эта инструкция для практикующих врачей-хирургов, изданная в начале Великой Отечественной войны, к этому времени бактериофаги стали признанным антибактериальным средством и рекомендовались для использования в хирургической практике при лечении ран и острых инфекционно-воспалительных процессов. На фото: титульный лист и предисловие к книге «Инструкции по методам хирургического лечения». М.: НАРКОМЗДРАВ СССР, МЕДГИЗ. 1942

Главный хирург Красной армии академик Бурденко



немецкими войсками. С одной стороны, она была неожиданным союзником, с другой – прямой угрозой, так как эпидемия не признает линии фронта.

Чтобы оценить опасность, в Сталинград была откомандирована профессор З. В. Ермольева из московского Всесоюзного института экспериментальной медицины, уже имевшая опыт работы с бактериофагами в военных условиях. (Кстати сказать, именно Ермольева в том же 1942 г. получила первый советский пенициллин – *крустозин ВИЭМ*, который стали активно применять в военных госпиталях к концу Великой Отечественной войны.)

Для получения холерных вибрионов требовался «материал» – трупы умерших от холеры. И тогда в Берлин полетели полные недоумения депеши: из немецких полевых лазаретов стали пропадать трупы военнослужащих – их похищали и доставляли за линию фронта советские полковые разведчики. Но холерные вибрионы, отправленные на завод в г. Горький (Нижегород), оказались ослабленными и не годились для культивации промышленных бактериофагов. Поэтому на заводе была проведена большая работа по заражению

кроликов и выращиванию необходимых патогенных бактерий и их бактериофагов. К сожалению, эшелон с полученным с таким трудом фаговым препаратом разбомбила немецкая авиация. Поэтому Ермольева прямо в осажденном Сталинграде организовала подземную тайную лабораторию по производству холерного бактериофага, который ежедневно получали около 50 тыс. человек!

В конце 1942 г. Зинаиде Виссарионовне позвонил сам Главнокомандующий И. В. Сталин и задал жизненно важный вопрос: «Не опасно ли держать под Сталинградом более миллиона людей, и не помешает ли планам командования эпидемия холеры?». Бактериолог ответила, что на своем фронте она победу одержала – теперь слово за Красной Армией.

Вот так в СССР было положено начало массовому применению бактериофагов, причем в тот момент, когда весь мир перешел на антибиотики, открытые британским ученым А. Флемингом еще в 1928 г.

Новейшая история

После войны отечественная история бактериофагов продолжилась: вплоть до сегодняшнего дня препараты бактериофагов успешно производят на российских предприятиях, выпускающих иммунобиологические препараты.

В настоящее время НПО «Микроген» – крупнейшее предприятие Минздрава России – производит 14 препаратов, содержащих бактериофаги к самым распространенным возбудителям бактериальных инфекций. Их используют для профилактики и лечения острых кишечных инфекций – дизентерии, брюшного тифа, сальмонеллезов, а также для лечения гнойно-септических и других заболеваний различной локализации: хирургических инфекций, заболеваний уха, горла, носа, легких и плевры, урогенитальной патологии, гастроэнтероколитов, дисбактериоза кишечника, а также инфекционных заболеваний новорожденных и детей первого года жизни. Выпускаются препараты на трех заводах объединения, созданных на базе микробиологических институтов: в Уфе – с 1939 г., в Горьком – с 1941 г., и в Перми – с 1995 г.

Конечно, со времен Великой Отечественной войны технология выращивания бактериофагов была значительно усовершенствована: создана реакторная технология культивирования, оптимизированы среды для выращивания. Особое внимание было уделено очистке бактериофагов от балластных составляющих, для чего сейчас используется *ультрафильтрация*, что увеличивает безопасность препаратов.

Современное российское производство бактериофагов – беспрецедентное в мире по своим масштабам. Бактериофаги выпускают как полноценные лекарственные препараты, и сегодня в нашей стране



Глубинное выращивание бактериофага в реакторах – важный этап в развитии производства фагов.



ежегодно используется более 1 млрд упаковок этого противобактериального средства. Однако лишь в 2016 г. бактериофаги – спустя столетие после их открытия! – были внесены в официальную российскую фармакопею.

Один из последних примеров массового применения российских бактериофагов в качестве профилактического средства – использование их в регионах, пострадавших от наводнения.

Так, в 2013 г. около 70 тыс. доз *интести-бактериофага*, действие которого направлено против широкого спектра бактерий, вызывающих заболевания желудочно-кишечного тракта, было доставлено в районы Дальнего Востока. А в 2014 г. в районы Алтайского края и Республики Хакасия отправилось более 8 тыс. упаковок этого препарата, а также дизентерийного и сальмонеллезного бактериофагов.

Таким образом, препараты бактериофагов были и остаются одним из быстрых средств реагирования на бактериальную угрозу в самые трагические и кризисные моменты для нашей страны. Культура производства и применения этих противомикробных средств, сохраненная благодаря творческому и самоотверженному труду отечественных ученых, приобретает особую ценность в условиях стремительно нарастающей бактериальной устойчивости к антибиотикам.

Важным этапом в развитии производства бактериофагов стало создание технологии глубинного культивирования в реакторах-ферментерах (слева). Этот метод, позволяющий менять состав питательной среды в широком интервале, добиваясь максимального выхода целевого продукта с минимальным использованием ручного труда, и сегодня с успехом применяется на предприятиях НПО «Микроген» (вверху).

Литература

Покровская М.П., Каганова Л.С., Морозенко М.А. и др. *Лечение ран бактериофагом*. М.: НАРКОМЗДРАВ СССР, МЕДГИЗ. 1941. 57 с.

Инструкция по методам хирургического лечения. М.: НАРКОМЗДРАВ СССР, МЕДГИЗ. 1942. 216 с.

В публикации использованы иллюстративные материалы из архива НПО «Микроген», из книг «Лечение ран бактериофагом». 1941; «Инструкция по методам хирургического лечения». 1942

Редакция благодарит Б.А. Рыжикова (ФГУП НПО «Микроген», Москва) за помощь в подготовке публикации