

## Специфический бактериофаг для лечения хирургической инфекции, вызванной *Pseudomonas Aeruginosa*, в эксперименте

Ю.Н. КОЗЛОВА, В.Е. РЕПИН, И.В. МАЙБОРОДИН

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Российская Федерация

**Цель исследования** Морфологическими методами исследовать результаты применения специфического фага для лечения у крыс экспериментальной пневмонии, вызванной синегнойной палочкой.

**Материал и методы** Методом световой микроскопии изучали изменения легких, печени и селезенки крыс после применения бактериофага для лечения пневмонии, вызванной *Pseudomonas Aeruginosa* (синегнойная палочка).

**Результаты и их обсуждение** Было обнаружено, что специфическая фаготерапия приводит к купированию признаков дыхательной недостаточности, общей интоксикации, явлений пневмонии и сепсиса, увеличению выживаемости животных. Вместе с этим в легких после лечения имелись признаки абсцедирования, в печени - дистрофические изменения гепатоцитов, а в селезенке - гипертрофия и гиперплазия лимфоидных узлов. Эти осложнения, которые могут как являться последствиями пневмонии, так и быть обусловлены использованием фага, требуют разработки и применения специфических мер профилактики и лечения.

**Заключение** Сохранение жизни животных в результате только фаготерапии, без применения антибактериальных препаратов, острой септической пневмонии, вызванной *Pseudomonas Aeruginosa*, даже при наличии различных осложнений, является, безусловно, положительным результатом. Требуются дальнейшие исследования для уточнения дозировки, способов применения показаний и противопоказаний, осложнений применения бактериофага для лечения хирургических инфекций.

**Ключевые слова** *Pseudomonas Aeruginosa*, фаготерапия, пневмония, сепсис, осложнения

## Treatment of the Surgical Infection Caused *Pseudomonas Aeruginosa* in Experiment

Iu.N. KOZLOVA, V.E. REPIN, I.V. MAIBORODIN

The Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch, 8 Akademika Lavrent'eva Ave., Novosibirsk, 630090, Russian Federation

**The purpose of the study** By morphological methods to estimate results of specific bacteriophage use for treatment of the experimental pneumonia caused *Pseudomonas Aeruginosa*.

**Materials and methods** The changes of rat lungs, liver and spleen after bacteriophage application for treatment of the pneumonia caused *Pseudomonas Aeruginosa* were studied by method of light microscopy.

**Results and their discussion** It was revealed that specific phagotherapy leads to disappearance of signs of respiratory insufficiency, the general intoxication, the pneumonia and sepsis phenomena, the increase in survival rate of animals. However, in the lungs after treatment there were signs of formation of abscessis, in liver - dystrophic changes of hepatocytes, and in spleen - hypertrophy and hyperplasia of lymphoid nodules. These complications, which can as well as be pneumonia consequences and phage use, demand working out and application of specific measures of preventive maintenance and treatment.

**Conclusion** Survival of animals as a result of only a phagotherapy of the acute septic pneumonia caused by *Pseudomonas aeruginosa*, without application of antibacterial drugs, even in the presence of various complications, certainly, is positive result. Further researches for specification of a dosage, ways of application, indications and contraindications, complications of bacteriophage use for treatment of surgical infections are required

**Key words** *Pseudomonas Aeruginosa*, phagotherapy, pneumonia, sepsis, complications

Бактерии, резистентные к большинству или ко всем из всех известных антибиотиков, вызывают всё более серьезные проблемы. Это увеличивает риск возврата человечества к проблемам того периода, когда антибиотики были неизвестны, когда были широко распространены неизлечимые инфекции и эпидемии. Несмотря на интенсивную работу фармацевтических компаний, за последние 30 лет не было найдено новых классов антибиотиков. Есть надежда, что недавно обнаруженная возможность полностью секвенировать микробные геномы и определять молекулярные основы патогенности откроет новые пути лечения инфекционных заболеваний, но со всё большим рвением идет поиск других подходов к этой проблеме. Одним

из результатов такого поиска является вновь возникший интерес к возможностям терапевтического использования бактериофагов - специфических вирусов, которые атакуют только бактерии и убивают патогенные микроорганизмы [2, 4-7, 9, 10].

В связи с полным отсутствием литературных данных о результатах фаготерапии пневмоний, в частности вызванных таким грозным бактериальным агентом, как *Pseudomonas aeruginosa*, было предпринято настоящее исследование.

Цель исследования – методом световой микроскопии изучить результаты применения специфического фага для лечения у крыс экспериментальной пневмонии, вызванной синегнойной палочкой.

## Материал и методы

В качестве модели были использованы самцы крыс инбредной линии Wag весом 180–200 г возрастом 6 месяцев. Все манипуляции с животными осуществляли под общим ингаляционным эфирным наркозом в условиях чистой операционной с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». Все крысы были получены из вивария Института цитологии и генетики СО РАН, содержание и работу с животными проводили на базе вивария Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. В каждой группе исследования было использовано 6 крыс.

Группы животных:

Интактные.

Нелеченные. В данной группе крыс после обработки кожи спиртом в правую плевральную полость (в межреберный промежуток) инъекционно было введено 500 мкл культуры *P. aeruginosa* (штамм 666 № СКМ) с титром 109 КОЕ/мл. Далее крыс содержали при 4°C в течение 3 часов и переводили на обычный режим.

Леченные. Животные были инфицированы *P. aeruginosa* в указанной дозе с последующим охлаждением. Через 1 сутки перорально было введено 500 мкл бактериофага ph 57 с титром  $8 \times 10^7$  БОЕ/мл, через трое суток повторно ввели такое же количество бактериофага.

Фаг ph 57 (рис. 1) депонирован в коллекции Экстремофильных микроорганизмов и типовых культур Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, регистрационный номер коллекции в WFCC #974. Бактериофаг ph 57 выделен из экскрементов животных вивария и характеризуется следующими свойствами: содержит двуспиральную ДНК, форма головки – икосаэдральная, ее диаметр 66–72 нм, диаметр хвоста 16–18 нм. На газоне бактериальных культур *P. aeruginosa* фаг образует прозрачные пятна лизиса диаметром негативных колоний 1,5–2 мм. Центр прозрачный, край неровный, вторичный рост отсутствует. Литическая активность бактериофага не изменяется при нагревании суспензии в течение 30 мин. при температуре 55°C. Пределы допустимых в суспензиях pH, при которых фаг активен, составляет 4,5–9,5. 3-х кратное замораживание-оттаивание образца не приводит к снижению титра активных частиц. Фаг устойчив к хлороформу в соотношении 1:20. Экспозиция ультрафиолетом и с перекисью водорода приводят к снижению литической активности бактериофага. В течение 15 минут 1% хлорамин инактивирует бактериофаг. При воспроизведении фага в клетке-хозяине продолжительность латентного периода составляет 30–45 минут, урожайность – 90–100 частиц на одну бактериальную клетку.

Спустя 1 сутки нелеченных крыс (согласно предварительным исследованиям, до истечения 3 суток доживало не более 5% животных) и через 8 суток леченных и интактных крыс выводили из эксперимента

передозировкой эфирного наркоза. Легкие и печень использовали для определения роста инфекционного агента методом отпечатков в питательную среду РПА. Эти же органы вместе с селезенкой фиксировали в 4% растворе параформальдегида на фосфатном буфере (pH 7.4) не менее 24 часов, обезживали в серии этанола возрастающей концентрации, просветляли в кислоте и заключали в гистопласт. Срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, изучали на световом микроскопе Axioimager M1 (Carl Zeiss, Германия) при увеличении до 1200 раз.

## Результаты и их обсуждение

Через 1 сутки у нелеченных животных была отмечена гиподинамия и затрудненное дыхание с влажными хрипами, но все крысы оставались живыми. Из печени и легких животных этой группы методом отпечатков был произведен посев на питательную среду РПА. Высеянный штамм имел сплошной рост. Бактериофаг ph 57 полностью лизировал выделенную культуру и, таким образом, соответствовал штамму *P. aeruginosa*.

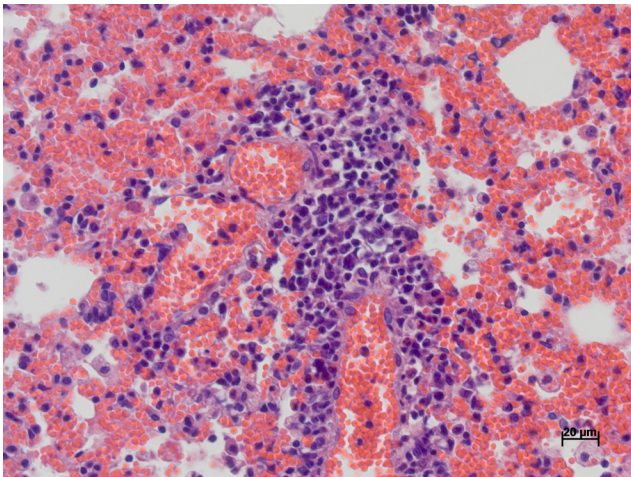
При морфологическом исследовании в легких нелеченных крыс были найдены явления гиперемии и бронхопневмонии на стадии красного опеченения (пропитывание всех структур кровью). Имелись признаки отека легких: прозрачный слабоэозинофильный выпот в просвете альвеол и бронхиол. Кроме того, просвет некоторых бронхов был полностью обтурирован слизью, слущенным эпителием и лейкоцитами. Необходимо отметить лейкоцитарную инфильтрацию с образованием мелких очагов во всех тканях легких, в цитограмме инфильтрирующих лейкоцитов преобладали лимфоциты и макрофаги (рис. 1).

В печени животных через 1 сутки после заражения было обнаружено выраженное полнокровие, нарушение балочного строения и зернистая дистрофия гепатоцитов. В паренхиме органа присутствовали лимфоцитарная инфильтрация, увеличение числа купферовских и эндотелиальных клеток.

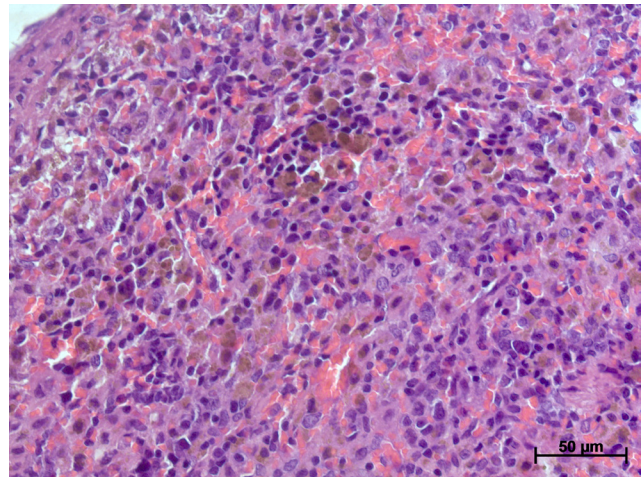
Селезенка была опустошена и состояла практически из стромы с небольшими лимфоидными узелками, где было мало клеток. В синусной системе органа присутствовало множество макрофагов с бурыми включениями – сидерофагов, которые элиминируют поврежденные и разрушенные эритроциты из кровотока. Следует отметить появление большого числа молодых клеточных элементов стромы в красной и белой пульпе, указывающих на начало развития склеротических процессов в селезенке (рис. 2).

Все леченные животные в течение 8 дней оставались живыми. Гиподинамия и внешние признаки дыхательной недостаточности исчезли к 4-м суткам. Из образцов тканей органов крыс на 8-е сутки методом отпечатков на среду РПА не было высеяно инфекционного штамма.

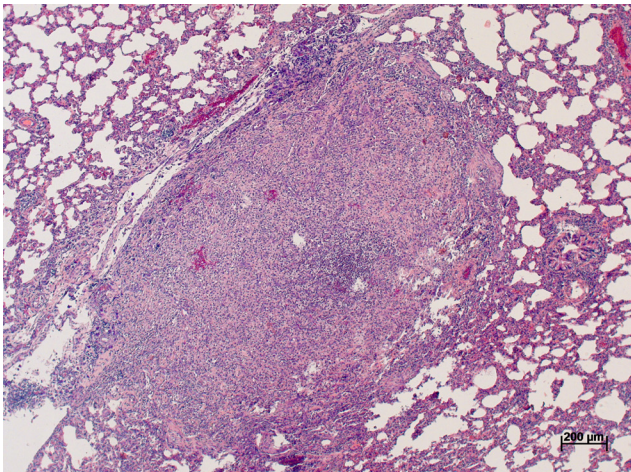




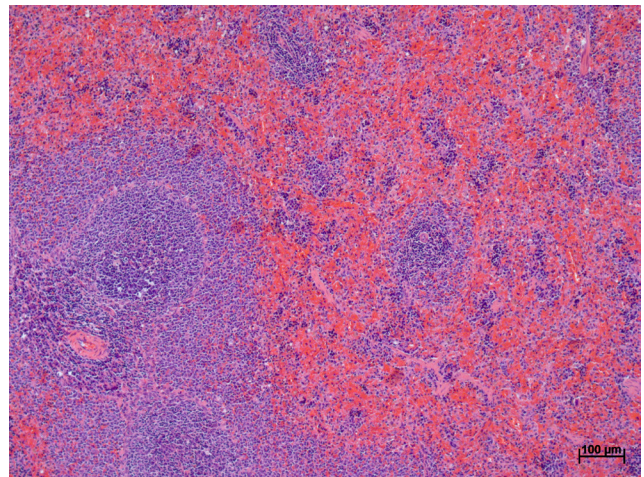
**Рис. 1.** Через 1 сутки после инфицирования *Pseudomonas Aeruginosa* без последующего лечения в паренхиме легкого присутствует лейкоцитарный инфильтрат с преобладанием в цитограмме лимфоцитов. Гиперемия и пропитывание всех тканей легкого форменными элементами крови. Окраска гематоксилином и эозином



**Рис. 2.** Спустя 1 сутки после моделирования пневмонии, вызванной *Pseudomonas Aeruginosa*, без последующего лечения в селезенке содержится большое число крупных овальных клеток с бурыми включениями в цитоплазме - сидерофагов. Окраска гематоксилином и эозином



**Рис. 3.** Через 8 дней после инфицирования *Pseudomonas Aeruginosa* и перорального введения специфического бактериофага ткани легкого практически нормального строения. В паренхиме легкого расположен очень крупный лейкоцитарный инфильтрат без распада в центре и без капсулы вокруг. Окраска гематоксилином и эозином



**Рис. 4.** В селезенке спустя 8 дней после лечения бактериофагом пневмонии, вызванной *Pseudomonas Aeruginosa*, содержатся очень крупные и множество мелких лимфоидных узелков. Красная пульпа органа полнокровна. Окраска гематоксилином и эозином

На 8-е сутки в легких можно было найти свидетельства перенесенной пневмонии. Большей частью альвеолы свободные, но имелась лейкоцитарная инфильтрация стенок альвеол. Вместе с этим, присутствовали ограниченные нейтрофильные инфильтраты (абсцессы) от небольших до очень крупных. В одном случае был обнаружен большой абсцесс с нейтрофильной инфильтрацией в центре и большим числом макрофагов снаружи (макрофагальный вал), клеточный и тканевой детрит в этой структуре отсутствовал (рис. 3).

В печени найдена гидропическая, вплоть до крупновакуольной, дистрофия гепатоцитов, балочное строение при этом сохранено. Можно также отметить умеренную лимфоцитарную инфильтрацию. Визуально селезенка была увеличена в размерах и

полнокровна, при микроскопическом исследовании обнаружена резкая гиперемия органа, гипертрофия и гиперплазия лимфоидных узелков. При этом скоплений сидерофагов и признаков склероза не было (рис. 4).

Введение синегнойной палочки с последующим охлаждением организма крыс приводит к развитию острой бактериальной пневмонии, о чем свидетельствует большой объем выпота в легких, пропитывание их тканей кровью и лейкоцитарная инфильтрация стенок альвеол. Пневмония сопровождается сепсисом с поражением внутренних органов, на это указывает возможность роста *P. aeruginosa* из отпечатков не только легких, но и печени, лейкоцитарная инфильтрация с формированием мелких очагов в печени и селезенке, увеличение численности клеток Купфера в печени.

В пользу острого септического воспаления указывает развитие соединительной ткани и опустошение селезенки, видимо, связанные с выходом иммуноком-

петентных клеток в кровеносное русло для осуществления своих функций в пораженных тканях. Следует отметить, что имеются литературные данные о возможности миграции из лимфоидных органов в ткани при воспалительных процессах Т- [1] и В-клеток [8].

Появление значительного числа сидерофагов, скорее всего, связано с массивным повреждением и разрушением клеток крови в очаге воспаления - легких. Оттуда эритроциты с дефектной мембраной попадают в кровь и далее поглощаются этим типом макрофагов. Также возможно повреждение эритроцитарных мембран антигенными комплексами, во множестве присутствующими в крови при массивном остром воспалении и сепсисе.

Острая бактериальная пневмония с сепсисом быстро приводит к общей интоксикации и дыхательной недостаточности, которые служат причиной гибели животных в течение вторых суток после инфицирования.

После перорального применения бактериофага, специфического в отношении синегнойной палочки, все крысы оставались живы. Явления дыхательной недостаточности и интоксикации (гиподинамия и хрипы) купировались к 4-м суткам, признаки сепсиса и присутствия инфекционного агента даже в легких найдены не были (отсутствие роста *P. aeruginosa* в отпечатках легких и печени).

В литературе имеются результаты исследований, свидетельствующие об эффективности применения фаготерапии для лечения поражений, вызванных синегнойной палочкой. J.S.Soothill [16] провел ряд весьма красивых исследований по подготовке к использованию бактериофагов при инфекционных заболеваниях и у ожоговых больных. Используя морских свинок, он показал, что отторжение кожного трансплантата может быть предотвращено предшествующей обработкой бактериофагом против *Pseudomonas aeruginosa*. Он также наблюдал великолепный защитный эффект фагов как против *Pseudomonas*, так и против *Acinetobacter* при системных инфекциях мышей, вызванных соответствующими возбудителями. В последнем случае всего 100 фаговых частиц защищали от инфицирования 100 миллионами бактерий – пятикратной LD50 [14-16]!

Видимо, при пероральном применении фаг каким-то образом проникает в кровеносное русло, попадает в легкие и там начинает функционировать и размножаться лизируя клетки *P. aeruginosa*. Кроме того, конечно возможно попадание аэрозоля с фагом непосредственно в легкие при его пероральном введении, особенно при учащенном дыхании на фоне дыхательной недостаточности при пневмонии.

Фаги легко попадают в организм из пищеварительного тракта и размножаются везде, где присутствуют соответствующие бактерии, что выявляется как по присутствию вируса в крови и моче, так же, как и по терапевтическим эффектам. Это подтверждается

эффективностью против системных инфекций, так что в инъекционном введении надобности нет [3, 11-13, 17].

Исследователи обычно сообщают, что фаги появляются в кровотоке и других жидкостях организма вскоре после введения *per os* или нанесения на рану [3, 11-13].

S. Slopek с соавт. [12, 13], A. Kucharewicz-Krukowska и S. Slopek [3] применяли пероральную фаготерапию. В целом, она включала прием через рот 10 мл стерильного лизата фага за полчаса до каждого приема пищи, с нейтрализацией желудочного сока водой Vichy (щелочной), пищевой содой или желатином. Кроме того, пропитанные фагом компрессы обычно накладывались 3 раза в день на очаг поражения при местных инфекциях. Лечение продолжалось 1,5-14 недель, в среднем, 5,3 недели; при кишечной патологии было достаточно короткого лечения, тогда как при таких проблемах, как пневмония с плевральным свищем и гнойный артрит оно было очень долгим.

Успешно использовали и другие методы введения, в том числе, аэрозоли, ректальную инфузию или введение в хирургические раны [11].

Вместе с этим, в наших экспериментах в легких крыс после фаготерапии имелись признаки абсцедирования: формирование мелких нейтрофильных абсцессов у всех крыс и у 1 особи был найден крупный абсцесс с распадом в центре и макрофагальным валом на периферии.

Не исключено, что в результате использования фага большинство бактерий гибнет, но остаются микроорганизмы, находящиеся в лейкоцитарных инфильтратах и недоступные для фага даже при повторном его введении. Для восстановления подавленной иммунной защиты (опустошение селезенки через 1 сутки после инфицирования) необходимо определенной время, за этот срок уцелевшие бактерии размножаются в инфильтратах или даже в самих фагоцитах (незавершенный фагоцитоз) и только постепенно лизируются нейтрофилами и макрофагами. Эти клетки образуют инфильтраты вокруг участков ткани с антигенами, такие инфильтраты и были обнаружены спустя 8 суток после начала эксперимента.

Также возможно, что лейкоцитарные инфильтраты были сформированы вокруг поврежденных в результате размножения *P. aeruginosa* тканей легких. Применение фага не сопровождается ускорением репарации поврежденных тканей. И в таком случае лейкоцитарные инфильтраты свидетельствуют только о том, что в легких к 8-м суткам еще не полностью лизированы нежизнеспособные ткани. Присутствие большого абсцесса также свидетельствует в пользу этого предположения. Такой абсцесс был образован вокруг значительного массива погибшей паренхимы легкого и в центре его продолжается активный лизис детрита, о чем свидетельствует нейтрофильная инфильтрация. Трудно судить о дальнейшей судьбе такой структуры, но, скорее всего, будет сформирован типичный



абсцесс с соединительнотканной капсулой, который будет существовать в течение всей жизни животного или опорожнится через какой-то бронх в случае расплавления его стенки.

Выраженные дистрофические изменения клеток печени (крупновакуольная дистрофия гепатоцитов) и реакции селезенки (гипертрофия и гиперемия органа, гипертрофия и гиперплазия лимфоидных узелков) можно объяснить с четырех различных позиций.

Во-первых, такие изменения могут оставаться после острой септической пневмонии. Явления сепсиса приводят к бактериемии, попаданию и размножению микроорганизмов в различных органах, в том числе в печени и селезенке. Повреждения структур и тканей этих органов, видимо, могут оставаться в течение какого-то времени даже после ликвидации сепсиса и излечения пневмонии.

Кроме того, применение фага приводит к быстрой ликвидации бактериального агента и, таким образом, происходит менее активный иммунный ответ организма и наблюдается большая сохранность иммунокомпетентных органов. Если в случае нелеченной пневмонии селезенка была практически «пуста» (уменьшение размеров и числа узелков и количества клеток в них), то после фаготерапии, наоборот, были отмечены морфологические признаки активации данного органа, заключающиеся в увеличении размеров органа, увеличении размеров и числа лимфоидных узелков. То есть организм сам активно борется с инфекцией, ее остатками или последствиями.

Во-вторых, изменения печени и селезенки могут быть связаны с мелкими и крупными лейкоцитарными инфильтратами, присутствующими в легких. Хроническая интоксикация, сопровождающая острую септическую пневмонию и длительное остаточное воспаление, может приводить как к дистрофическим изменениям печени, так и к реактивным изменениям селезенки.

В-третьих, не исключено, что сам фаг, как организм, содержащий белковый капсид и чужеродную ДНК, может обладать определенной антигенностью и вызвать иммунные реакции на фаготерапию [7], проявляющиеся в поражении печени и изменениях селезенки.

Необходимо отметить, что наряду с литературными сообщениями об особых показаниях к фаговой терапии для лиц с аллергией к антибиотикам [4], имеются данные о нехватке способности систем защиты организма млекопитающих, особенно органов рети-

кулоэндотелиальной системы, для полного удаления частиц бактериофагов из кровеносной системы [7].

S. Slopek и соавт. [11] приводят данные о том, что примерно на 3-5-е сутки после применения фага часто возникает боль в области печени, продолжавшаяся несколько часов. Авторы предположили, что это осложнение может быть связано с выделением большого количества эндотоксинов при наиболее интенсивной гибели бактерий под воздействием фагов. В случаях тяжелого сепсиса у больных на 7-8-е сутки часто возникла лихорадка, длившаяся в течение 24 часов.

В тех случаях, когда планируется инъекционное введение, фаги рекомендовано концентрировать и ресуспендировать в физиологическом растворе, а к режиму контроля добавить тестирование на морских свинках, чтобы убедиться в отсутствии остаточных фрагментов бактериальной поверхности (эндотоксинов), которые могут вызывать осложнения после инъекции [7, 11].

В-четвертых, также нельзя исключить вероятности того, что дистрофические изменения гепатоцитов, гипертрофия и гиперплазия лимфоидных узелков селезенки могут быть обусловлены массивной гибелью (лизисом) синегнойной палочки в легких и других органах

В любом случае сохранение жизни животных в результате только фаготерапии, без применения антибактериальных препаратов, острой септической пневмонии, вызванной *P. aeruginosa*, даже при наличии участков абсцедирования в легких, дистрофических изменений печени и реактивных изменений селезенки является, безусловно, положительным результатом.

### Заключение

Пероральное применение специфического бактериофага для лечения острой пневмонии и сепсиса, вызванных *P. aeruginosa* в эксперименте на крысах, приводит к купированию признаков дыхательной недостаточности, общей интоксикации, явлений пневмонии и сепсиса, увеличению выживаемости животных. Вместе с этим, в легких крыс после фаготерапии пневмонии на фоне введения синегнойной палочки, имелись признаки абсцедирования, в печени - дистрофические изменения гепатоцитов, а в селезенке - гипертрофия и гиперплазия лимфоидных узелков. Эти осложнения, которые могут являться как последствиями пневмонии, так и быть обусловлены использованием фага, требуют разработки и применения специфических мер профилактики и лечения.

## Список литературы

1. Azzali G., Arcari M.L., Caldara G.F. The "mode" of lymphocyte extravasation through HEV of Peyer's patches and its role in normal homing and inflammation. *Microvasc. Res.*, 2008; 75: 2: 227-237.
2. Barrow P.A., Soothill J.S. Bacteriophage therapy and prophylaxis: rediscovery and renewed assessment of the potential. *Trends Microbiol.*, 1997; 5: 7: 268-271.
3. Kucharewicz-Krukowska A., Slopek S. Immunogenic effect of bacteriophage in patients subjected to phage therapy. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. 1987; 35: 5: 553-561.
4. Kutter E., Vos de D., Gvasalia G. et al. Phage therapy in clinical practice: treatment of human infections. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2010; 1: 1: 69-86.
5. Lederberg J. Smaller fleas ... ad infinitum: therapeutic bacteriophage redux. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996; 93: 8: 3167-3168.
6. Levin B.R., Bull J.J. Population and evolutionary dynamics of phage therapy. *Nat. Rev. Microbiol.* 2004; 2: 2: 166-173.
7. Merrill C.R., Biswas B., Carlton R. et al. Long-circulating bacteriophage as antibacterial agents. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996; 93: 8: 3188-3192.
8. O'Hanlon T.P., Lawless O.J., Katzin W.E. et al. Restricted and shared patterns of TCR beta-chain gene expression in silicone breast implant capsules and remote sites of tissue inflammation. *J. Autoimmun.* 2000; 14: 4: 283-293.
9. Pirnay J.P., Vos de D., Verbeken G. et al. The phagetherapy paradigm: prêt-à-porter or sur-mesure? *Pharm. Res.* 2011; 28: 4: 934-937.
10. Radetsky P. Return of the Good Virus. *Discover.* 1996; 17: 50-58.
11. Slopek S., Durlakowa I., Weber-Dabrowska B. et al. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections. I. General evaluation of the results. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. 1983; 31: 3: 267-291.
12. Slopek S., Kucharewicz-Krukowska A., Weber-Dabrowska B., Dabrowski M. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections. IV. Evaluation of the results obtained in 370 cases. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. 1985; 33: 2: 219-240.
13. Slopek S., Weber-Dabrowska B., Dabrowski M., Kucharewicz-Krukowska A. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections in the years 1981-1986; *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. 1987; 35: 5: 569-583.
14. Soothill J.S. Bacteriophage prevents destruction of skin grafts by *Pseudomonas aeruginosa*. *Burns.* 1994; 20: 3: 209-211.
15. Soothill J.S. Treatment of experimental infections of mice with bacteriophages. *J. Med. Microbiol.* 1992; 37: 4: 258-261.
16. Soothill J.S., Morton D.B., Ahmad A. The HID50 (hypothermia-inducing dose 50): an alternative to the LD50 for measurement of bacterial virulence. *Int. J. Exp. Pathol.* 1992; 90: 2, 1992; 73: 1: 95-98.
17. Weber-Dabrowska B., Dabrowski M., Slopek S. Studies on bacteriophage penetration in patients subjected to phage therapy. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. 1987; 35: 5: 563-568.

Поступила 03.07.13 г.

## References

1. Azzali G., Arcari M.L., Caldara G.F. The "mode" of lymphocyte extravasation through HEV of Peyer's patches and its role in normal homing and inflammation. *Microvasc. Res.* 2008; 75: 2: 227-237.
2. Barrow P.A., Soothill J.S. Bacteriophage therapy and prophylaxis: rediscovery and renewed assessment of the potential. *Trends Microbiol.* 1997; 5: 7: 268-271.
3. Kucharewicz-Krukowska A., Slopek S. Immunogenic effect of bacteriophage in patients subjected to phage therapy. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. 1987; 35: 5: 553-561.
4. Kutter E., Vos de D., Gvasalia G. et al. Phage therapy in clinical practice: treatment of human infections. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2010; 1: 1: 69-86.
5. Lederberg J. Smaller fleas ... ad infinitum: therapeutic bacteriophage redux. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996; 93: 8: 3167-3168.
6. Levin B.R., Bull J.J. Population and evolutionary dynamics of phage therapy. *Nat. Rev. Microbiol.* 2004; 2: 2: 166-173.
7. Merrill C.R., Biswas B., Carlton R. et al. Long-circulating bacteriophage as antibacterial agents. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996; 93: 8: 3188-3192.
8. O'Hanlon T.P., Lawless O.J., Katzin W.E. et al. Restricted and shared patterns of TCR beta-chain gene expression in silicone breast implant capsules and remote sites of tissue inflammation. *J. Autoimmun.* 2000; 14: 4: 283-293.
9. Pirnay J.P., Vos de D., Verbeken G. et al. The phagetherapy paradigm: prêt-à-porter or sur-mesure? *Pharm. Res.* 2011; 28: 4: 934-937.
10. Radetsky P. Return of the Good Virus. *Discover.* 1996; 17: 50-58.
11. Slopek S., Durlakowa I., Weber-Dabrowska B. et al. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections. I. General evaluation of the results. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. 1983; 31: 3: 267-291.
12. Slopek S., Kucharewicz-Krukowska A., Weber-Dabrowska B., Dabrowski M. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections. IV. Evaluation of the results obtained in 370 cases. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. 1985; 33: 2: 219-240.
13. Slopek S., Weber-Dabrowska B., Dabrowski M., Kucharewicz-Krukowska A. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections in the years 1981-1986; *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. 1987; 35: 5: 569-583.
14. Soothill J.S. Bacteriophage prevents destruction of skin grafts by *Pseudomonas aeruginosa*. *Burns.* 1994; 20: 3: 209-211.
15. Soothill J.S. Treatment of experimental infections of mice with bacteriophages. *J. Med. Microbiol.* 1992; 37: 4: 258-261.
16. Soothill J.S., Morton D.B., Ahmad A. The HID50 (hypothermia-inducing dose 50): an alternative to the LD50 for measurement of bacterial virulence. *Int. J. Exp. Pathol.* 1992; 90: 2, 1992; 73: 1: 95-98.
17. Weber-Dabrowska B., Dabrowski M., Slopek S. Studies on bacteriophage penetration in patients subjected to phage therapy. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. 1987; 35: 5: 563-568.

Received 03.07.2013

---

### Информация об авторах

1. Козлова Юлия Николаевна - аспирант Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН
2. Репин Владимир Евгеньевич - к.б.н., зав. лабораторией микробиологии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН
3. Майборodin Игорь Валентинович - д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории стволовой клетки. Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. E-mail: imai@mail.ru

### Information about the Authors

1. Kozlova Iu. - Ph.D., Student of the Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the SB RAS
2. Repin V. - Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher of the Laboratory of Microbiology, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the SB RAS
3. Maiborodin I. - MD, Professor, Senior Researcher of the Laboratory of Stem Cells, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the SB RAS: e-mail: imai@mail.ru