

Роль бактериофагов *B. Anthracis* в противодействии биотерроризму

В.Г. Попов, В.Н. Каркищенко, С.Ю. Пчелинцев, Д.В. Попов, А.А. Старшов

Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Москва

Институт новых технологий РАМН, Москва

Открытие антибиотиков по праву приравнивается к крупнейшим научным достижениям XX века. Тем не менее, появление антибиотико-устойчивых штаммов в последнее время усложняет проблему профилактики и лечения особо опасных инфекций. Поэтому применение препаратов вирулентных бактериофагов и их ферментов рассматривается как стратегическое направление в области диагностики, профилактики и лечения инфекций.

Ключевые слова: антибиотики, бактериофаги, биотерроризм, профилактика, терапия.

Введение

Возможность применения биотеррористами штаммов особо опасных инфекций (ООИ) представляет серьёзную угрозу в связи с доступностью биотехнологий и активным внедрением генно-инженерных разработок. Поэтому исследования, касающиеся профилактики, своевременной диагностики и лечения сибирской язвы, возбудитель которой может быть использован в качестве биологического оружия, приобретают чрезвычайную актуальность.

Международный и государственный контроль не может быть эффективным в связи с появлением значительного числа специалистов высокого уровня на рынке рабочей силы. Как это не удивительно, но самые благоприятные возможности для биотерроризма создает постоянно развивающаяся международная экономическая интеграция.

Очевидно, что в создавшихся условиях разработка средств противодействия биотерроризму, в частности новых лечебно-профилактических препаратов, может быть частью мероприятий, гарантирующих защиту от ООИ.

Всесторонний обзор проблем, связанных с биотерроризмом, опубликован в целом ряде работ. В данном сообщении представлены литературные данные, касающиеся сибирской язвы.

Цель работы: определить наиболее актуальные направления исследований по разработке лечебно-профилактических препаратов.

Сибирская язва (Anthrax)

Сибирская язва (Anthrax) — острая инфекционная болезнь, протекающая в виде кожной, ингаляционной и гастроинтестинальной форм.

Ежегодно в мире регистрируется более 20 000 случаев заболеваний сибирской язвой. Болезнь широко распространена во многих странах Африки, Азии, Южной и Центральной Америки, Среднего Востока и Карибского бассейна; в США и странах Европы наблюдаются единичные случаи. Вместе с тем сообщения о вспышках сибирской язвы появляются регулярно во всех частях мира, в том числе и в европейских странах [15].

Bacillus anthracis является одним из наиболее вероятных патогенов, используемых биотеррористами. Особое внимание эта инфекция привлекла после появления в США осенью 2001 г. сообщений о применении спор этого микроорганизма в качестве бактериологического оружия. По данным Центров по контролю и профилактике заболеваний (CDC), по состоянию на 5 декабря 2001 г. в США зарегистрированы 22 случая сибирской язвы. У 18 пациентов диагноз был подтвержден, у 4 установлен предва-

рительный диагноз. Были зарегистрированы 11 случаев легочной и 11 случаев кожной формы болезни; из них 5 пациентов с ингаляционной формой сибирской язвы умерли.

Научный и практический интерес к проблемам, связанным с сибирской язвой, достаточно высок. Возбудитель сибирской язвы впервые был обнаружен в 1849-1850 гг. одновременно в России, Франции и Германии, а чистую культуру впервые выделил Р. Кох в 1876 г. Возбудитель сибирской язвы — *Bacillus anthracis* — принадлежит к семейству Bacillaceae и представляет собой аэробную грамположительную палочку длиной 6-10 мкм и шириной 1-2 мкм, неподвижную, образующую споры и капсулу. Образование капсулы кодируется плазмидой 60 kDa. *B. anthracis* хорошо растет на простых питательных средах и кровяном агаре, не требует использования специальных культуральных методик и образует характерные колонии в виде «головы медузы». На агаре Мак-Конки и других селективных питательных средах, содержащих соли желчных кислот, микроорганизм не растет. Культуры возбудителя не обладают гемолитическими свойствами.

Вегетативные формы *B. anthracis* быстро погибают в анаэробных условиях, при нагревании и действии дезинфицирующих средств. Споры *B. anthracis* имеют центральное расположение в клетке и являются термостабильными. Как и у многих других представителей рода *Bacillus*, они обладают высокой устойчивостью к действию факторов внешней среды и могут сохраняться в почве многие десятки лет.

B. anthracis продуцирует 3 термолабильных белка: *отечный фактор* (EF), *летальный фактор* (LF) и *протективный антиген* (PA), каждый из которых в отдельности не обладает патогенными свойствами; токсический эффект возникает лишь в комбинации друг с другом. Капсула *B. anthracis* состоит из поли-D-глутаминовой кислоты и может быть легко обнаружена при

соответствующем окрашивании препаратов. К капсуле, отечному и летальному факторам и протективному антигену в организме человека и животных вырабатываются специфические антитела. Однако прямая корреляционная связь отмечается только между титрами антител к протективному антигену и защищенностью животных к сибирской язве.

Для того чтобы штамм *B. anthracis* был достаточно вирулентным, он должен продуцировать оба токсина (летальный и отечный) и обладать способностью к образованию капсулы. Такие штаммы имеют в своем составе две плазмиды патогенности: рХО1 — кодирует синтез токсинов; рХО2 — отвечает за образование капсулы [20]. Выработка этих факторов патогенности зависит от ряда условий: концентрации в окружающей среде гидрокарбонатов, определенного температурного режима и др.

Как указывалось, *B. anthracis* вырабатывает три термолабильных белка: протективный антиген; летальный фактор; отечный фактор. Последние два белка попарно соединяются с протективным антигеном и образуют два экзотоксина, известных как летальный и отечный токсины. Отечный токсин состоит из отечного фактора (89 кД) и протективного антигена (83 кД). Летальный токсин, в свою очередь, также состоит из двух компонентов — летального фактора (90 кД) и протективного антигена. Протективный антиген, выполняя роль молекулы-переносчика, является необходимым компонентом при реализации токсических эффектов, обусловленных обоими токсинами. Основная функция протективного антигена — формирование в мембране клетки каналов, через которые внутрь проникают остальные компоненты токсина — отечный и летальный факторы. На первом этапе протективный антиген связывается со специфическими рецепторами на поверхности мембраны клеток млекопитающих — главным образом макрофагов. Они называются АТХ-рецепторами (*anthrax toxin*

receptor) и относятся к мембранным белкам I типа [13]. После закрепления на мембране клетки-мишени под действием мембранной протеазы происходит олигомеризация протективного антигена с образованием гептамера (63 кД), который последовательно связывается с отечным или летальным фактором [11]. Образовавшийся комплекс проникает в цитоплазму клетки посредством рецептор-опосредованного эндоцитоза.

Летальный фактор является цинкзависимой протеазой, имеет сложную химическую структуру и состоит из 4 доменов, каждый из которых выполняет специфическую функцию [30].

Отечный фактор представляет собой кальций- и кальмодулинзависимую аденилатциклазу [18, 19], при участии которой синтезируется цАМФ в цитоплазме эукариотических клеток.

Компоненты токсинов *B.anthraxis* обладают способностью блокировать фагоцитоз опсонизированных бактерий. Наряду с подавлением фагоцитоза оба токсина в комбинации ингибируют кислородозависимые бактерицидные системы полиморфно-ядерных лейкоцитов (нейтрофилов) [24]. Эффекты летального токсина реализуются через активацию ряда цитокинов, в том числе интерлейкина-1 и фактора некроза опухоли, выделяемых из поврежденных макрофагов и приводящих к нарушению свертывающей системы крови, а также способствующих развитию септического шока и распространенного отека тканей.

Для профилактики и лечения сибирской язвы применяют живые, аттенуированные, химические вакцины и антибиотики.

Природные штаммы *B.anthraxis*, в том числе и штаммы, выделенные в США осенью 2001 г., чувствительны ко многим антибиотикам, включая пенициллин, амоксициллин, доксициклин, тетрациклин, кларитромицин, клиндамицин, рифампицин, ванкомицин, хлорамфеникол и ципрофлоксацин.

По данным *in vitro* исследований, цефазолин и другие цефалоспорины I поколения также активны в отношении *B.anthraxis*. Выделенные в США осенью 2001 г. 11 штаммов возбудителя сибирской язвы оказались умеренно резистентными к эритромицину и азитромицину.

Несмотря на то, что долгое время пенициллин был препаратом выбора для лечения сибирской язвы, встречаются, хотя и в редких случаях, природные штаммы *B.anthraxis*, резистентные к пенициллину. В связи с этим пенициллин уже не может считаться препаратом выбора для лечения различных форм сибирской язвы. Более того, уже описаны случаи развития резистентности у штаммов *B.anthraxis* при культивировании на средах, содержащих субингибирующие концентрации некоторых антибиотиков (доксициклин, эритромицин, азитромицин, кларитромицин, ципрофлоксацин, алатрофлоксацин, гатифлоксацин). Устойчивые к доксициклину штаммы, хотя и редко, но встречаются в естественных условиях [16].

Необходимо отметить, что при исследовании генома была обнаружена способность *B.anthraxis* продуцировать б-лактамазы: индуцибельную пенициллиназу класса А и конститутивную цефалоспоринолазу класса В, обеспечивающую резистентность к цефалоспорином II-III поколений. Наличие индуцибельной пенициллиназы класса А заставляет задуматься над оправданностью применения пенициллинов, особенно при ингаляционной форме сибирской язвы. Более того, б-лактамные антибиотики плохо проникают в макрофаги — клетки, где споры трансформируются в вегетативные формы. По результатам исследований *in vitro*, возбудитель сибирской язвы также устойчив к сульфаметоксазолу, триметоприму, ко-тримоксазолу, азтреонаму [29]. Одной из проблем, связанных с превентивной антимикробной терапией, является риск развития нежелательных лекарственных реакций, возрас-

тающий с увеличением продолжительности приема антибиотиков.

Так, осенью 2001 г. в США регистрировались нежелательные реакции, возникавшие у почтовых служащих, которым в течение 60 дней проводилась превентивная антибактериальная терапия. Из 3428 пациентов, получавших ципрофлоксацин, тошнота, рвота, диарея и боли в животе отмечались у 19%, обморочные состояния и головокружение — у 14%, изжога и рефлюкс — у 7%, сыпь различного характера, крапивница и зуд кожи — у 6%. Всего у нескольких пациентов были зарегистрированы симптомы, связанные с анафилактическими реакциями (затруднения при дыхании, глотании, чувство сдавления в области шеи, отек губ, языка или лица) и потребовавшие медицинского наблюдения. Тяжелых реакций и летальных исходов, связанных с приемом препарата, не зарегистрировано.

Не менее важно и то, что длительный прием антимикробного препарата может способствовать селекции резистентности к нему других, более распространенных и клинически значимых возбудителей. Наряду с гибелью патогенных микроорганизмов при длительном использовании фторхинолонов, как и других антибиотиков, происходит гибель нормальной микрофлоры организма человека. Поэтому в настоящее время не вызывает сомнений актуальность разработки быстродействующих эффективных средств для лечения сибирской язвы, вызываемой антибиотико-резистентными патогенами *Bacillus anthracis*. Недостаточная надежность антибиотикотерапии побуждает к поиску других методов лечения этого заболевания. Одно из перспективных направлений в решении данной задачи — применение вирулентных бактериофагов.

Идея применения бактериальных вирусов в лечении различных инфекционных заболеваний человека и животных возникла практически одновременно с открыти-

ем фагов. Таким образом, фаготерапия известна уже около ста лет. Ее становление сопровождалось активными дискуссиями о целесообразности использования фагов в качестве антимикробных лечебных агентов. В истории постепенного укрепления принципов фаготерапии можно выделить следующие этапы. В 1917 году канадский ученый Ф. Д'Эрелль впервые выдвинул идею фаготерапии болезней бактериальной этиологии [17]. Несколько позже он успешно апробировал фаги в лечении сальмонеллеза птиц, возбудителем которого является патоген *Salmonella gallinarum*. В другой серии экспериментов исследователь получил положительный эффект после обработки шигеллезными фагами кроликов с инфекционным патогеном *Shigella dysenteriae*. Следующий крупный успех Д'Эрелля — реализация проекта по фаготерапии больных холерой в Индии.

Работы канадского исследователя послужили стимулом к широкому применению различных фагов в лечебных целях. В США были организованы несколько крупных компаний по производству фаговых препаратов. В период с 1930 по 1940 годы увидели свет около 500 статей, посвященных различным аспектам фаготерапии. С 1940 г. и далее в течение нескольких десятилетий интерес к лечебным фагам несколько снизился. С одной стороны, это было обусловлено широким применением антибиотиков, с другой — далеко не всегда использование фагов сопровождалось положительным терапевтическим эффектом, что констатировалось в соответствующих публикациях. Основная причина таких неудач — недостаточная изученность свойств бактериальных вирусов. Ряд экспериментов сопровождался появлением в микробной популяции фагоустойчивых форм патогенов из-за использования умеренных фагов.

Открытие явления лизогении [25] следует считать важнейшим этапом в развитии идей фаготерапии. В этот период был

сформулирован один из основополагающих принципов конструирования лечебных образцов бактериальных вирусов, согласно которому препараты должны включать только вирулентные фаги. Последующие успехи фаготерапии в значительной степени обусловлены данным обстоятельством. Так, в Афганистане и Пакистане широко использовались вирулентные фаги при лечении и профилактике холеры. Русские эпидемиологи обработали фаговыми препаратами около 300 000 людей, что остановило развитие эпидемии [33]. Прогресс при лечении фурункулеза фагами отмечен в работе [14]. Для лечения и профилактики в нашей стране наряду с вакциной применяли бактериофаги. Большую группу среди них составляли фаги против кишечных инфекций: дизентерийный, брюшнотифозный, сальмонеллезный (группы ABCDE), колипротейный. Развитие резистентных форм бактерий и осложнения, связанные с применением антибиотиков и сульфамидных препаратов, привели к широкому спросу на так называемые раневые бактериофаги — стафилококковый, стрептококковый, коли, протейный, синегнойной палочки. Лечебные препараты против сибирской язвы отсутствуют [2].

Румынские исследователи продемонстрировали успешное сочетанное лечение урологических заболеваний человека вирулентными фагами и антибиотиками [30]. О растущей популярности фаготерапии свидетельствуют начавшиеся в этот период широкие исследования реакции организма человека и животного на бактериофаги. Результаты изучения роли ретикуло-эндотелиальной системы в процессе выведения фагов из организма представлены в работе [22]. Работа [28] открыла большую серию публикаций об иммунном ответе млекопитающих на введение бактериальных вирусов.

В 70-е и 80-е годы в ряде работ были высказаны сомнения относительно эффективности антибиотиков в лечении ин-

фекционных заболеваний. Все чаще констатировалось распространение антибиотикорезистентных патогенных бактерий. Так называемые плазмиды устойчивости к антибиотикам (R-плазмиды) могут передаваться от одной клетки патогена к другой на уровне вида и даже рода [21]. Со временем стала очевидной необходимость поиска антибактериальных средств, альтернативных антибиотикам. Серия новых публикаций — доказательство того, что такой альтернативой могут быть бактериальные фаги.

Примечательны работы, в которых представлены результаты сравнительных исследований эффективности антибиотиков и фагов в лечении экспериментальных инфекций животных. Авторы показали, что бактериофаги эффективнее антибиотиков [35].

С 1981 до 1987 г. широкие исследования различных аспектов фаготерапии (конструирование лечебных препаратов, фармакинетика, иммунология и т.д.) были проведены в Польше группой С. Слоупека. В работах польских ученых обобщен опыт лечения фагами более 500 пациентов с различными гнойно-воспалительными заболеваниями и даны ценные практические рекомендации [34].

В настоящее время вопросами фаготерапии занимаются во многих лабораториях мира, о чем свидетельствуют публикации последних лет. Их анализ позволяет отметить следующее.

Далеко не каждый фаг может быть использован в лечебных целях. Этой точки зрения придерживается большинство специалистов в области фаготерапии. Конструированию лечебного препарата должны предшествовать подробные исследования биологических, иммуно-химических и физико-химических свойств фагов. С учетом этих характеристик производится скрининг наиболее перспективных для лечения бактериальных вирусов [3, 7].

В России проблемы разработки лечебных фаговых препаратов находятся в цен-

тре внимания многих научно-исследовательских институтов. Конструирование лечебных образцов бактериальных вирусов проводится с ориентацией на определенные требования. Препарат должен включать только вирулентные фаги с широкими спектрами по отношению к штаммам конкретного патогена. Фаги должны воспроизводиться в клетке-хозяине с высоким выходом дочерних фаговых частиц. Литическая активность препарата должна быть стабильной при длительном его хранении. Препарат должен включать фаги, существенно отличающиеся друг от друга по механизму взаимодействия с клеткой — хозяином. Применение таких комбинаций при лечении уменьшает вероятность генерации фагоустойчивых форм в популяции патогена.

К настоящему времени описаны несколько видов фагов *B. anthracis*, которые отнесены к трем семействам по классификации [10].

Бактериофаги CP-51 и CP-54 принадлежат семейству *Myoviridae*. Вирион каждого из этих бактериальных вирусов включает изометричную головку диаметром около 120–122 нм и сокращающийся хвостовой отросток длиной 198–200 нм (A1-морфотип). Аппарат адсорбции фагов — базальная пластинка и фибриллы длиной около 40 нм. Литическая активность CP-51 и CP-54 быстро снижается при хранении препаратов. В геноме (ДНК) фага CP-51 тимин полностью замещен на 5-hydroxymethyl-uracil.

Гамма-фаг отнесен к семейству *Siphoviridae* и морфотипу B1. По данным японских исследователей, диаметр икосаэдрической головки равен 52 нм, длина несокращающегося отростка — 185 нм. В работе Акерманна констатируется, что вирион включает головку диаметром 59 нм и хвостовой отросток длиной 217 нм. Содержание ГЦ-пар в геноме фага составляет 36 мол.%. В состав вириона входят десять белков с молекулярной массой от 12 до 140 kd [37].

Бактериофаг AP50 — липидсодержащий бактериальный вирус с гексагональным вирионом без хвостового отростка (семейство *Tectiviridae*). Диаметр вириона составляет 80 нм [27]. В отличие от других известных бациллярных фагов, геном AP50 представлен рибонуклеиновой кислотой (РНК). Показано, что в состав оболочки AP50 входят фосфатидилэтаноламин, фосфатидиловая кислота (phosphatidic acid), кардиолипид и фосфатидилглицерин. Инфекционный процесс в системе фаг-клетка характеризуется продолжительным латентным периодом (55 мин) и высокой урожайностью, составляющей 310 частиц на одну клетку [27].

Следует отметить, что сибиреязвенные бактериальные вирусы были открыты еще в 30-е годы прошлого столетия. Тем не менее, до настоящего времени ни один из фагов не исследован детально в соответствии со всеми рекомендациями Международного комитета по таксономии вирусов [9]. Мы не располагаем опубликованными данными и относительно разработок лечебных препаратов сибиреязвенных бактериальных вирусов.

Как указывалось выше, особенностью микроба *B. anthracis* является наличие факторов патогенности (токсина и капсулы), которые не ингибируются фагами, поэтому использование только фагового препарата не позволит полностью решить проблему профилактики и лечения сибирской язвы.

Ранее нами было показано, что специфические антитела различных классов оказывают разноплановое действие на факторы патогенности. IgG-антитела ингибируют развитие спор в фазе инициации, капсулообразования *B. anthracis*, нейтрализуют сибиреязвенный токсин. Активным началом является F(ab)2 фрагмент иммуноглобулина G. Превентивные свойства сыворотки обусловлены F(ab)2 фрагментом IgG и опсонизирующим эффектом IgM на начальных этапах развития спор.

В настоящее время для лечения различных форм сибирской язвы применяют гетерологичный (лошадиный) иммуноглобулин, который в ряде случаев является мало эффективным, а также обладает выраженными сенсибилизирующими свойствами. Поэтому необходимо применение химически чистых препаратов специфических антител, либо их F(ab)2 фрагментов, не обладающих таким побочным эффектом. Одним из возможных направлений исследований является получение моноклональных антител и их F(ab)2 фрагментов с заданной специфичностью к отдельным антигенам *B.anthraxis* на различных стадиях развития микроба [30, 31].

Моноклональные антитела, благодаря их высочайшей специфичности, стандартности и технологичности получения, успешно вытесняют и заменяют иммунную сыворотку и препараты на ее основе.

В проекте предусмотрено проведение экспериментов по сочетанному применению вирулентных фагов и моноклональных антител в моделях с животными, зараженными патогеном *B. anthracis*. Целесообразно подробнее рассмотреть иммунологический аспект будущей работы.

С открытием Koler и Milstein в 1975 году [23] возможности применения гибридизации соматических клеток для получения стационарных гибридных клеток — гибридом, продуцирующих моноклональные антитела, началась новая эра иммунологических исследований. Методика гибридомы разрешила одну из основных проблем, которую иммунологи пытались разрешить на протяжении многих лет, — проблему длительного производства больших количеств гомогенных антител к разнообразным антигенам.

Значительное увеличение числа лабораторий в мире, производящих моноклональные антитела с помощью гибридомной технологии, является свидетельством преимуществ их использования как инструмента для исследований, по сравне-

нию со стандартными препаратами антител человека. В качестве примера можно привести работы по получению клеточных линий и их клонов, которые вырабатывают антитела к столбнячному токсину [5]. В многочисленных публикациях освещены вопросы по применению моноклональных антител (МА) по индикации опасных патогенов, в том числе и *B.anthraxis* [12].

Заключение

1. Рекомендации по использованию антибиотиков должны постоянно пересматриваться с учетом антибиотикорезистентности агента и новой информации, полученной в ходе клинических, микробиологических и иммунохимических исследований.

2. Наряду с антибактериальными средствами для профилактики и лечения различных форм сибирской язвы могут использоваться и другие терапевтические препараты: глюкокортикоиды, ингибиторы ангиотензии, ферменты (лизины), факторы некроза опухолей и блокаторы кальциевых каналов, генно-инженерные аналоги протективных антигенов, требующие дальнейшего изучения.

3. Внедрение комплексного препарата на основе фагового препарата и специфических антител, на наш взгляд, является наиболее эффективным направлением как для лечения различных форм заболевания сибирской язвы, так и профилактики.

Литература

1. Ашмарин И.П., Тарумов В.С., Попов В.Г. и др. Опсонизирующая активность иммуноглобулинов противосибирезной сыворотки. *Лабораторное дело*, 1980, № 5, 257-320.
2. Бургасов П.Н. Руководство по вакцинному и сывороточному делу. М., Медицина, 1978, 438 с.
3. Жиленьков Е.Л., Попов Д.В., Попова В.М., Дарбеева О.С., Майская Л.М. Совершенствование методов конструирования препаратов

- бактериофагов для лечения лор-патологии. *Биопрепараты*. 2002. № 2(6), с. 2-6.
4. Каркищенко Н.Н. Лекарственная профилактика. М., Воентехлит, 2001, 761 с.
5. Кеннетт Р.Г., Дж. Мак-Керна, Бехтол К.Б. Моноклональные антитела. М., Медицина., 1983. 416 с.
6. Крылов В.Н. Фаготерапия: мифы и реальностью. *Наука в России*. 2002, № 4, с. 41-46.
7. Попов В.Г., Щербаков Г.Я., Маринин Л.И., Старицын Н.А., Степанов А.В. Профилактика и терапия сибиреязвенной инфекции. 2003. <http://bio.su/poppr.htm>.
8. Попов Д.В. Разработка фагового препарата для лечения хронического гнойного среднего отита. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Москва. 2003. 29 с.
9. Ackermann H.-W., DuBow M.S. 1987. Viruses of prokaryotes. vol.I. General properties of bacteriophages. CRC Press. Boca Raton. 2003.
10. Ackermann H.-W., Eisenstark A. The present state of phage taxonomy. *Intervirology*. 1974. V. 3. P. 201-219.
11. Ahuja N., Kumar P., Bhatnagar R. Hydrophobic residues Phe552, Phe554, Ile562, Leu566, and Ile574 are required for oligomerization of anthrax protective antigen. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 287:542-9.
12. Bessler W.G. et al. Generation of human monoclonal antibodies against Bacillus Snthraxis toxin. *Biological Medical Defense Conference*, 2004, P. 43.
13. Bradley K.A., Mogridge J., Mourez M., Collier R.J., Young J.A. Identification of the cellular receptor for anthrax toxin. *Nature* 2001; 414:225-9.
14. Bryant R.E. Safford J.P., Alcoze T. Treatment of recurrent furunculosis with staphylococcal bacteriophage-lysed vaccine. *JAMA*. 1965. V. 194. P. 11-14.
15. Caksen H., Arabaci F., Abuhandan M., Tuncer O., Cesur Y. Cutaneous anthrax in eastern Turkey. *Cutis* 2001; 67:488-92.
16. Cieslak T.J., Eitzen E.M. Jr. Clinical and Epidemiologic Principles of Anthrax. *Emerg Infect Dis* 1999; 5:552-5.
17. D'Herelle F. Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysenteriques. *Comptes rendus Acad. Sci. Paris*. 1917. 165: 373-375.
18. Farrar W.E. Anthrax: virulence and vaccines. *Ann Intern Med* 1994; 121:379.
19. Fox J. Bioterrorism: microbiology key to dealing with threats letter. *ASM News* 1998; 64:225-7.
20. Green B.D., Battisti L., Koehler T.M., Thorne C.B., Ivins B.E. Demonstration of capsule plasmid in Bacillus anthracis. *Infect Immun* 1985; 49:291-7.
21. Hahn F.E., Washington D.C. Acquired resistance of microorganisms to chemotherapeutic drugs. *Basel-Munchen-Paris-London-New-York-Sidney*. 1976. 201 pp.
22. Inchley C.J. The activity of mouse Kupffler cells following intravenous infection of T4 bacteriophage. *Clin. Exp. Immunol*. 1969. V. 5. P. 173-187.
23. Kohler G., Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*, 1975. V. 256, P. 495.
24. Lew D.P. Bacillus anthracis (Anthrax). In: Mandell G.L., Bennett J.E., Dolin R. *Principles and practice of infectious diseases*. 2001. 5th ed. V. 2. p. 2215-20.
25. Lwoff A. Lysogeny. *Bact. Rev*. 1953. 17. 269-337.
26. Monoclonal antibodies. Hibridomas: A New Dimension in Biological Analyses. Ed. by R.H.Kennett, T.J.McKearn and K.B.Bechgtol. Plenum Press. New York & London. 1981.
27. Nagy E., Pragai B., Ivanovics G. Characterization of phage AP50, an RNA phage containing phospholipids. *J. Gen. Virol.*, 1976. V. 32. P. 129-132.
28. Ochs H.D., Davis S.D., Wedgwood R.J. Immunologic responses to bacteriophage ΦX174 in immunodeficiency diseases. *J. Clin. Invest*. 1971. V. 50. P. 2559-2568.
29. Odendaal M.W., Peterson P.M., de Vos V., Botha A.D. The antibiotic sensitivity patterns of Bacillus anthracis isolated from the Kruger National Park. *Onderstepoort J Vet Res* 1991; 58:17-9.
30. Pannifer A.D., Wong T.Y., et al. Crystal structure of the anthrax lethal factor. *Nature* 2001; 414:229-33.
31. Popov V.G. Therapy and prophylaxis of anhrhax infection with specific bacteriophages and immunoglobulins. *Biological Medical Defense Conference*. October 2004., Munchen.

32. *Popov V.G.* Therapy and prophylaxis of anhrax infection. *Biological Medical Defense Congress. 2004. Canadian colloquium in Moscow.*
33. *Sayamov R.M.* Treatment and prophylaxis of cholera with bacteriophage. *Bull WHO. 1963. V. 28. P. 361.*
34. *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. 1987. V. 35. P. 569-583.*
35. *Smith H.W., Huggins M.B.* Effectiveness of phage in treating experimental *Escherichia coli* diarrhea in calves, piglets and lambs. *J. Gen. Microbiol. 1983. V. 129. P. 2659-2675.*
36. *Tchubanova S.A., Zhilenkov E.L., Popova V.M., Zheludeva I.V., Tylskiy V.S., Golubkov A.S., Panushin S.K.* To a problem creation of the phage gel for treatment of inflammatory periodontal diseases. *Parodontology. 2000. No. 4(18). P. 48-52.*
37. *Watanabe T., Morimoto A., Shiomi T.* The fine structure and the protein composition of phage of *Bacillus anthracis*. *Can. J. Microbiol. 1975. V. 21. P. 1889-1892.*
38. *Zilisteanu C., Ionescu H., Ionescu-Dorohoi T., Mintzer L.* Treatment of urinary infections with bacteriophage-autovaccine-antibiotics. *Arch. Roum. Pathol. Exp. Microb. 1971. V. 30. P. 195-207.*

* Corresponding author V.G. Popov.

E-mail address: popoviie@mail.ru

THE ROLE OF BACTERIOPHAGES *B. ANTRACIS* IN THE COUNTERACTION OF BIOTERRORISM

V.G. Popov, V.N. Karkischenko, S.Yu. Pchelintsev, D.V. Popov, A.A. Starshov

Research Center for Biomedical Technologies of RAMS, Moscow

Institute of New Technologies of RAMS, Moscow

The inculcation of complex drug on the base of phage drug and specific antibodies is one of the most effective direction for the treatment of the different forms of *Anthrax* and for it's prophylaxis.

Key words: Anthrax, bacteriophages, treatment, prophylaxis.