

Фаготерапия инфекции ожоговых ран в эпоху антибиотикорезистентности

А. А. Тулупов, В. В. Бесчастнов

ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России
Россия, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д. 10/1

Контактное лицо: Александр Андреевич Тулупов, tulupov.a.a@yandex.ru

Инфекция ожоговых ран, вызванная антибиотикорезистентными патогенами, — ведущая причина системных инфекционных осложнений у обожженных и ключевое звено патогенеза ожоговой болезни, обуславливающее ее течение и исход. Применение фаготерапии для преодоления антибиотикорезистентности возбудителей инфекции является перспективным направлением, развитие которого может улучшить результаты лечения обожженных. В статье рассматриваются: 1) особенности инфекционного процесса у обожженных; 2) влияние антибактериальной химиотерапии инфекции ожоговых ран на микробиом и процессы репаративной регенерации; 3) принципы фаготерапии; 4) пути доставки бактериофагов; 5) развитие резистентности к бактериофагам; 6) персонализация фаготерапии.

Ключевые слова: ожоговые раны, раневая инфекция, фаготерапия, антибиотикорезистентность.

Для цитирования: Тулупов А. А., Бесчастнов В. В. Фаготерапия инфекции ожоговых ран в эпоху антибиотикорезистентности. Раны и раневые инфекции. Журнал им. проф. Б. М. Костюченка. 2023; 10 (2): 6-14.

DOI: 10.25199/2408-9613-2023-10-2-6-14

cc by 4.0

Phage therapy for burn wound infections in the era of antibiotic resistance

A. A. Tulupov, V. V. Beschastnov

Privolzhsky Research Medical University
10/1 pl. Minin and Pozharsky, Nizhny Novgorod, 603005, Russia

Infection of burn wounds caused by antibiotic-resistant pathogens is the leading cause of systemic infectious complications in burned patients and a key link in the pathogenesis of burn disease, causing its course and outcome. The use of phage therapy to overcome antibiotic resistance of infection agents is a promising direction, the development of which can improve the results of treatment of burned. The article discusses: 1) features of the infectious process in burned; 2) the effect of antibacterial chemotherapy of burn wound infection on the microbiome and the processes of reparative regeneration; 3) principles of phage therapy; 4) ways of delivering bacteriophages; 5) development of resistance to bacteriophages 6) personalization of phage therapy.

Key words: burn wounds, wound infection, phage therapy, antibiotic resistance.

For citation: Tulupov A. A., Beschastnov V. V. Phage therapy for burn wound infections in the era of antibiotic resistance. Wounds and wound infections. The Prof. B. M. Kostyuchenok Journal. 2023; 10 (2): 6-14.

Введение

Ожоговые раны — входные ворота для микрофлоры и ее «плацдарм» для развития инфекционного процесса [1]. Системная воспалительная реакция в ответ на генерализацию раневой инфекции — сепсис — является ведущей причиной смерти пациентов с ожоговыми ранами в период септикотоксемии [2]. Преобладание среди возбудителей инфекционного процесса антибиотикорезистентных штаммов снижает эффективность антибактериальной химиотерапии, что повышает продолжительность и стоимость лечения, а также риск летальности пациентов с ожоговыми ранами [3].

Надежды на быструю победу в борьбе с возбудителями раневой инфекции, которая казалась столь

близкой в середине прошлого столетия, к сожалению, не оправдались. Эти надежды связывались с наличием в арсенале клиницистов препаратов антибактериальной химиотерапии: антисептиков и 13 фармакологических групп антибиотиков с разными механизмами биологического действия [4]. Однако ковровые бомбардировки патогенов препаратами антибактериальной химиотерапии не привели к ликвидации инфекционных болезней в обществе, более того, они стали причиной «селекции» генов резистентности у госпитальных штаммов [5]. Помимо этого, использование средств антибактериальной химиотерапии нарушает баланс между представителями микробиома, оказывает цито- и органотоксическое воздействие [6, 7].

Клиническим потенциалом в борьбе с антибиотикорезистентными возбудителями инфекции ожоговых ран обладает фаготерапия. В последние годы фаготерапия рассматривается как «спасательный круг» при лечении инфекционных заболеваний у пациентов, находящихся в терапевтическом тупике [8, 9]. Согласно мнению экспертов, потенциал фаготерапии раскрывается как в монорежиме, так и в комбинации и/или чередовании с антибактериальной терапией, что может улучшить результаты лечения пациентов с ожоговыми ранами [10].

Цель нашего исследования — систематизация литературных данных, посвященных применению бактериофагов в борьбе с антибиотикорезистентными возбудителями инфекции у пациентов с ожоговыми ранами. Для детального понимания имеющихся проблем в лечении инфекций у пациентов с ожоговыми ранами в данной статье наше внимание сосредоточено на двух направлениях. Во-первых, мы анализируем данные о динамике развития инфекционного процесса у обожженных, антимикробной химиотерапии и ее последствиях. Во-вторых, подробно останавливаемся на клиническом использовании бактериофагов с учетом их фармакокинетики.

Особенности инфекционного процесса у обожженных

Развитие инфекционного процесса у пациентов с ожогами имеет свои особенности, понимание которых представляет большую клиническую ценность для снижения риска смерти пострадавших от инфекционных осложнений.

Поверхность ожоговой раны создает оптимальные условия для «полного цикла» инфекционного процесса — от микробной контаминации до инвазии и генерализации раневой инфекции. В целом динамика раневой инфекции при ожогах выглядит следующим образом. Раневая поверхность изначально является стерильной, поскольку под воздействием повреждающего фактора происходит гибель представителей резидентной микрофлоры в области термической травмы [11]. Через несколько часов с момента травмы происходит контаминация раневой поверхности грамположительными представителями комменсального микробиома, сохранившимися в волосяных, сальных и потовых железах, а также с поверхности кожи около раневой области [12]. В воспалительную стадию раневого процесса, сопровождающегося выделением богатого белками плазменного экссудата, одна бактерия может размножиться до 10 млн бактерий за 24 ч, колонизируя всю раневую поверхность и инициируя развитие инфекционного процесса [13].

Для уменьшения бактериальной нагрузки и профилактики инфекционных осложнений с первых суток стационарного лечения пациентам назначают эмпирическую системную антибиотикотерапию, а

раневую поверхность закрывают повязками с антисептиками [1]. При назначении антибиотикотерапии выбор препарата основывается на данных клинического состояния обожженного и эпидемиологической обстановки в отделении с учетом вероятных возбудителей инфекционного процесса. Этиотропная антибиотикотерапия назначается по результатам микробиологического исследования раневого отделяемого и лабораторного определения чувствительности выделенной микрофлоры к антибактериальным препаратам [14].

В процессе стационарного лечения на 5–7-е сут с момента термической травмы грамположительная микрофлора вытесняется грамотрицательной, преимущественно патогенами группы ESKAPE: *E. faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* и *Enterobacteriaceae* spp., которые являются наиболее проблемными в связи с ими приобретенной устойчивостью к препаратам антибактериальной химиотерапии [15]. Важно отметить, что замещение грамположительной микрофлоры грамотрицательной происходит на фоне применения средств антибактериальной химиотерапии. Это связано с тем, что грамотрицательные микроорганизмы имеют плотный липополисахаридный слой и быстрее формируют зрелые биопленки, что в совокупности препятствует достижению «мишени» — цитоплазматической мембраны бактериальной клетки — большинством антибактериальных препаратов [16]. Колонизационная активность грамотрицательных патогенов и развитие инфекционного процесса происходят под прикрытием антибиотиков и при местной поддержке антисептиков, губительных для большинства представителей комменсального микробиома.

Лечение пациентов с ожоговыми ранами, требующими пластического закрытия, зачастую исчисляется месяцами. За длительный период стационарного лечения микробный пейзаж раны претерпевает динамические изменения: меняется возбудитель (инфект), образуются микробные ассоциации, изменяется чувствительность к антибактериальным препаратам [17]. Получив актуальные результаты микробиологического исследования раневого отделяемого, свидетельствующие об изменениях микробного пейзажа необходимо проводить коррекцию этиотропной антибиотикотерапии, зачастую неоднократно. Однако чувствительность *in vitro* микрофлоры, колонизирующей раневое ложе, к антибактериальным препаратам не гарантирует селективной деконтаминации раневого ложа [18]. Клиническое применение антибактериальных препаратов системного действия при лечении ожоговых ран не всегда приводит к формированию эффективной локальной концентрации антибиотика в зоне клинического интереса вследствие нарушения микроциркуляции, местного воспаления, наличия некротических тканей [19].

Несмотря на местное и системное применение средств антибактериальной химиотерапии в первую и вторую фазу раневого процесса (по М. И. Кузину), возбудители инфекционного процесса как присутствуют на раневой поверхности, так и циркулируют в организме: обнаруживаются в крови, желудочно-кишечном тракте, трахеобронхиальном дереве [20]. Поскольку достичь деконтаминации раневого ложа, являющегося входными воротами инфекции, на практике невозможно, цель применения средств антимикробной химиотерапии сводится к снижению риска развития системных инфекционных осложнений, что сопровождается селекцией генов антибиотикорезистентности у госпитальных штаммов бактерий [21].

Влияние антибактериальной химиотерапии на микробиом и процессы репаративной регенерации

В медицинском сообществе растет обеспокоенность тем, что влияние средств антимикробной химиотерапии имеет непреднамеренные долгосрочные последствия. В частности, результаты экспериментальных и клинических исследований свидетельствуют, что антибиотик-ассоциированное нарушение баланса комменсального микробиома увеличивает риск развития метаболических, иммунологических и воспалительных заболеваний [22–24]. Кроме того, гибель комменсалов вследствие неизбирательного воздействия средств антибактериальной химиотерапии приводит к тому, что микробиом не может обеспечивать колонизационную резистентность, регуляцию иммунной системы, выполнять пищеварительную и синтетическую функции, которые в совокупности являются важными факторами для скорейшей эпителизации ожоговых ран и выздоровления обожженного [25, 26].

Большое значение в борьбе с возбудителями инфекционного процесса у обожженных играет локальное применение антисептиков, что обусловлено их минимальной системной токсичностью и низким риском формирования резистентности бактерий в сравнении с препаратами системной антибактериальной терапии [27]. Непосредственный контакт антисептика с инфицированной поверхностью ожоговой раны, а также высокая концентрация используемых растворов позволяют эффективнее снижать бактериальную нагрузку. Однако длительное применение антисептиков приводит к угнетению миграции фибробластов, дифференцировки кератиноцитов, клеточной пролиферации, оказывает цитотоксическое воздействие на грануляционную ткань, что негативно влияет на процессы репаративной регенерации и эпителизацию раневой поверхности [28, 29].

Принципы фаготерапии

Решение вопроса о начале фаготерапии должно приниматься после получения результата

микробиологического исследования раневого отделяемого с указанием микрофлоры, колонизирующей раневое ложе, и ее чувствительности к бактериофагам. Применение бактериофагов для борьбы с возбудителями бактериальных инфекций допустимо только при их высокой литической активности, подразумевающей лизис бактерий-мишеней [30].

Распространенной практикой является оценка литической активности фага по количеству «крестов»: «–» — отсутствие литической активности; «+» — низкая литическая активность (сплошной рост изолированных колоний бактерий на месте капли фага); «++» — зона лизиса с большим количеством колоний вторичного роста бактерий (≥ 15 колоний на месте капли фага); «+++» — зона лизиса с единичными колониями вторичного роста (≤ 15 колоний на месте капли фага); «++++» — прозрачная зона лизиса без колоний вторичного роста.

Согласно методическим рекомендациям по рациональному применению бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике от 2022 г. [31], допустимо клиническое применение раствора бактериофага, обладающего литической активностью в отношении бактерии-мишени не менее «+++», что соответствует упрощенной интерпретации «S» — чувствителен. При литической активности фага *in vitro* менее «+++», что соответствует упрощенной интерпретации «I» — чувствительный при увеличенной экспозиции или «R» — нечувствителен, клиническое применение фага исследуемой серии недопустимо. Эмпирическое назначение фаготерапии для лечения бактериальной инфекции не приведет к элиминации патогенов, а также повлечет за собой формирование профагов, переносящих гены резистентности между бактериями [32].

Пути доставки фагов

В клинической практике и исследованиях активно применяются наружный, парентеральный и энтеральный пути введения бактериофагов. Независимо от пути введения важно придерживаться основного принципа фаготерапии, который был сформулирован первооткрывателем фагов Ф. Д'Эреллем так: «Вводить бактериофаг в организм нужно таким образом, чтобы реализовать возможно быстрый и возможно более интимный контакт его с бактериями, подлежащими разрушению» [33].

Местная фаготерапия

При лечении инфекции ожоговых ран местное применение бактериофагов позволяет создать наиболее интимный контакт с бактериями, колонизирующими раневую поверхность. Помимо этого, успех местной фаготерапии инфекции ожоговых ран зависит от локальной концентрации фагов и бактерий-мишеней. Согласно принципам фармакокинетики

бактериофагов, описанным Стефаном Абедоном (Stephen Abedon) и Кристиной Домбровской (Krystyna Dąbrowska), локальная концентрация фагов в зоне клинического интереса должна превышать концентрацию бактерий-мишеней на два порядка, в результате чего достигаются «порог затопления» бактериальных клеток и их элиминация [34].

Применение марлевых влажно-высыхающих повязок, пропитанных раствором бактериофагов, для лечения локальных инфицированных ран может быть эффективным и соответствует инструкциям производителей, однако при санации ожоговых ран зачастую не приводит к желаемому клиническому результату — элиминации патогена, что было продемонстрировано в исследовании PhagoBurn [35, 36]. Испарение раствора бактериофагов, разбавление его раневым экссудатом быстро приводит к снижению исходной концентрации фагов и их литической активности, а ежедневные обильные смачивания марлевых повязок раствором бактериофагов нецелесообразны с экономической точки зрения и трудозатратны [37].

Поддержания концентрации фагов в зоне клинического интереса выше концентрации бактерий-мишеней в течение срока, кратного выполнению перевязки, можно достичь созданием «депо» бактериофагов, путем иммобилизации их в структуру полимерных носителей и раневых покрытий, в том числе биоразлагаемых на основе хитозана, альгината [38, 39]. Учитывая основное требование фаготерапии — применение фагов с высокой литической активностью, рационально выполнять их иммобилизацию в состав носителя *ex tempore* на основании актуальных данных микробиологического исследования раневого отделяемого.

При местной фаготерапии инфекции ожоговых ран оптимальной матрицей для иммобилизации раствора бактериофагов являются раневые покрытия на основе поливинилового спирта (ПВС) [40]. Раневые покрытия на основе ПВС обладают высокой впитывающей способностью, паропроницаемы, инертны для бактериофагов, раствор которых постепенно высвобождается на раневую поверхность, не замещаясь раневым экссудатом. Кроме того, раневые покрытия на основе ПВС препятствуют экзогенной бактериальной контаминации и безболезненно удаляются с раневой поверхности. Так, нами предложен и запатентован способ, позволяющий *ex tempore* создавать в зоне клинического интереса депо бактериофагов с сохранением их литической активности на срок до 4 сут [41]. Способ заключается в закрытии раневой поверхности гидрогелевой пластиной, полученной путем насыщения раневого покрытия на основе ПВС «Полипран» раствором литического бактериофага из расчета 0,1 мл раствора на 1 см² покрытия. Рассматриваемый способ позволяет выполнять перевязку инфицированной раны не чаще 2 раз в неделю, что обеспечивает в ране

покой, необходимый для благоприятного течения процессов репаративной регенерации. Важно отметить, что, независимо от используемого раневого покрытия, недопустимо совместное местное применение растворов бактериофагов и антисептиков, под воздействием которых происходит инактивация фага [31].

Системная фаготерапия

При обширном термическом поражении кожных покровов и других состояниях, подразумевающих длительное существование входных ворот инфекции открытыми, применять бактериофаги местно недостаточно [42].

Под воздействием на организм стрессовых факторов, снижения колонизационной резистентности и контаминации госпитальными патогенами, которые динамично обмениваются генами резистентности с условно-патогенными представителями комменсальной микробиоты, происходит пробуждение «Троянского коня». Понятие «Троянский конь» в контексте хирургической инфекции было предложено Джоном Алверди (John Alverdy) и подразумевает развитие инфекционного процесса по причине транслокации эндогенных бактерий из кишечника и миграции их по организму с током крови и лимфы, что на фоне ожоговой болезни и ожогового истощения выражается системной воспалительной реакцией — сепсисом [43, 44]. При генерализации возбудителей бактериальных инфекций с раневой поверхности и эндогенных источников возникает потребность в системном применении бактериофагов.

Внутривенная фаготерапия

Внутривенное применение как наиболее короткий и менее трудный затратный путь доставки фагов в системный кровоток не предусмотрен инструкциями производителей, однако в отдельных случаях применяется на Западе по программе расширенного доступа, когда стандартные схемы лечения неэффективны. Так, всеобщее внимание к системной фаготерапии с использованием внутривенного и внутрибрюшинного введения фага было привлечено результатами успешного лечения пациента с панкреонекрозом, осложненным сепсисом, вызванным панрезистентным *A. baumannii* [8]. Несмотря на этиотропную антибиотикотерапию препаратами резерва, не было достигнуто элиминации *A. baumannii*, и пациент в течение 3 мес находился в коме. В результате подбора литически активных фагов в отношении циркулирующего *A. baumannii* и начала системной фаготерапии удалось купировать бактериемию, состояние пациента улучшилось, лечение хорошо переносилось, наступило выздоровление.

Основным требованием для внутривенного применения растворов бактериофагов является их очистка от белковых примесей и эндотоксинов, которые являются триггерами для иммунной системы человека [45].

Результаты исследований, подтверждающих безопасность и эффективность внутривенного применения бактериофагов, описаны в исследовании Питера Спика (Peter Speck) и Энтони Смитимана (Anthony Smithyman) [46]. В своей работе они ссылаются на клинические исследования, в которых внутривенное введение фагов было выполнено почти 1000 пациентам с бактериемией. Незначительное количество побочных эффектов от внутривенного применения фагов проявлялось аллергическими реакциями разной степени выраженности. Ими отмечено, что, несмотря на то что проанализированные результаты исследований были выполнены во Франции, Канаде и США, они не соответствовали клиническим стандартам и не имели адекватного дизайна исследования. Авторы подчеркивают, что в случае очистки используемых растворов бактериофагов от эндотоксинов и белковых примесей риск развития аллергических реакций уменьшался.

Дополнительная очистка растворов фагов от белковых примесей и эндотоксинов с помощью ультрафильтрации, аффинной хроматографии и т. д. не является стандартной процедурой для большинства медицинских организаций, что ограничивает широкое клиническое применение внутривенной фаготерапии.

Альтернативные пути доставки фагов в системный кровоток (сублингвальный, ректальный) и формирование в нем концентрации фагов, достаточной для купирования бактериемии у пациентов с ожоговой травмой, считаются перспективным направлением борьбы с системными осложнениями раневой инфекции, смертность от которых достигает 70 % в период септикотоксемии [47].

Пероральная фаготерапия

Пероральный прием фагов при лечении инфекции ожоговых ран применяется, как правило, в комбинации с основным методом противомикробной терапии (антимикробной химиотерапии, местной фаготерапии), а также для снижения обсемененности кишечника условно-патогенными и патогенными бактериями, развившейся вследствие антибиотик-ассоциированного нарушения баланса между представителями кишечной микробиоты [48].

Результаты исследований фармакодинамики бактериофагов свидетельствуют, что через 1 ч после их перорального приема фаги обнаруживаются в крови, бронхиальном содержимом, спинномозговой жидкости, моче [49]. Однако пероральный прием фагов в монорежиме для борьбы с возбудителями инфекции ожоговых ран не соответствует требованиям фармакокинетики бактериофагов, поскольку формирование титра фагов, достаточного для достижения «порога затопления» в ране, может быть затруднено вследствие транзита через желудочно-кишечный тракт [34, 50].

Согласно инструкциям отечественных производителей, раствор бактериофагов применяют перорально за 1,5–2 ч до приема пищи. Фаги обладают высокой чувствительностью к кислотам (устойчивы в пределах pH от 5,0 до 8,0), а нормальная кислотность в просвете тела желудка натощак находится в пределах pH от 1,5 до 2,0. Учитывая этот факт, перед пероральным приемом фагов необходимо уменьшать кислотность в просвете желудка медикаментозно или за счет приема 100 мл щелочной минеральной воды «Боржоми» в качестве антацида [51].

Развитие резистентности к бактериофагам

Развитие у бактерий резистентности к бактериофагам было описано еще в первой половине XX в. исследовательским коллективом из США, которым зафиксировано, что в случае формирования неполных зон лизиса под каплей фага через некоторое время в этих зонах вырастали бактериальные колонии, устойчивые к используемому фагу. В последующем естественный отбор устойчивых к фагам бактерий приводил к замене всей культуры на фагорезистентные бактерии [52]. При формировании единичных бактериальных колоний, устойчивых к фагам, происходит коэволюция — совместная эволюция бактерий и фагов, взаимодействующих в ограниченной экосистеме [53].

Формирование у бактерий резистентности к фагам является естественным биологическим процессом. Подтверждением этому является лизогения — естественный жизненный цикл бактериофагов, при котором фаг внедряет свой геном (профаг) в хромосомную ДНК бактерии и размножается внутри бактериальной клетки, не вызывая ее лизиса [54]. При исходной антибиотикорезистентности бактериального штамма формирование у него резистентности к фагам становится экстремальной клинической ситуацией и в случае невозможности оперативно сменить серию фагов ведет к терапевтическому тупику.

Коллективом из НИИ бактериофагов, микробиологии и вирусологии им. Г. Элиавы (Тбилиси, Грузия) были опубликованы данные о формировании фагорезистентности при лечении хронической бактериальной инфекции кожи — эритродермии [55]. При микробиологическом анализе смывов с поверхности кожи, измененной эритемой на протяжении 4 лет, предшествующих фаготерапии, отмечался рост антибиотикорезистентного *S. aureus*. За 3 мес фаготерапии было достигнуто значительное клиническое улучшение, снижение степени бактериальной обсемененности *S. aureus*, однако отмечено формирование резистентности к используемым растворам бактериофагов. При формировании резистентности была выполнена замена используемых растворов бактериофагов на альтернативные, из других серий, что позволило продолжить фаготерапию и достичь стойкого клинического улучшения.

По данным систематического обзора, в который были включены 27 клинических исследований фаготерапии бактериальных инфекций из США, Грузии, Польши, России, Индии, Бельгии, Египта, Франции, Беларуси и Великобритании, формирование фагорезистентности не является распространенной проблемой и решается сменой используемого раствора фагов [56]. Однако фаготерапия еще не внедрена в широкую клиническую практику, как антибиотикотерапия, и не применяется так же нерационально. Следовательно, на данном этапе развития фаготерапии мы не обладаем достаточными данными, чтобы предугадать, наступит ли «эра фагорезистентности».

Для снижения риска формирования фагорезистентности у госпитальных штаммов бактерий целесообразно придерживаться двух направлений. Во-первых, адаптации растворов бактериофагов к микробиому конкретного пациента — персонализированная фаготерапия, а во-вторых, отказа от лечения моноинфекции комбинированными препаратами бактериофагов (поливалентных фагов и фаговых коктейлей) — расширения линейки коммерческих фагов за счет сужения спектра целевых штаммов бактерий [57, 58].

Персонализированная фаготерапия

Под персонализированной фаготерапией подразумевается индивидуальный подбор коктейля из фаговых изолятов, литически активных в отношении клинически значимого бактериального изолята, выделенного от конкретного пациента.

Понятие персонализации в контексте фаготерапии бактериальных инфекций несопоставимо с понятием этиотропной антибактериальной терапии, основанной на идентификации патогена, определении *in vitro* его чувствительности к коммерческим средствам антимикробной химиотерапии с последующим их назначением. Высокая специфичность фагов и фенотипическое разнообразие популяций клинических изолятов бактерий не всегда позволяют подобрать коммерческий раствор бактериофагов с литической активностью *in vitro*, равной «+++» или «++++».

Согласно литературным данным, литическая активность фагов *in vitro* может не приводить к элиминации патогенов *in vivo* по причине формирования у пациента штамм-специфичных фаговых IgG-антител, образующихся через 3 нед после первичного курса фаготерапии [59]. В совместном исследовании *in vitro* научных коллективов из Великобритании, Дании, Бельгии и Грузии были получены результаты, свидетельствующие, что индивидуально подобранные фаги проявляют большую литическую активность в отношении бактерии-мишени, благодаря чему повышается эффективность фаготерапии и снижается риск развития фагорезистентности [60].

Идея персонализированной фаготерапии взаимосвязана с концепцией рациональной антибиотикотерапии, для реализации которой распоряжением Правительства России от 25 сентября 2017 г. № 2045-р разработана Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года. Цель заключается в повышении эффективности профилактики и лечения инфекций, вызванных бактериями, обладающими резистентностью к препаратам антимикробной химиотерапии [14]. Для осуществления задач рассматриваемой стратегии на базе МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского согласно приказу Роспотребнадзора от 08.02.2018 № 68 сформирован Научно-методический центр по изучению и идентификации бактериофагов, одним из направлений деятельности которого является разработка алгоритма подбора персонализированных коктейлей бактериофагов для пациентов с бактериальной инфекцией. Так, внедрение в отделения реанимации и интенсивной терапии НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н. Н. Бурденко и ГКБ № 67 им. Л. А. Ворохобова персонализированного подхода в выборе бактериофагов для лечения инфекций, вызванных антибиотикорезистентными патогенами, привело к увеличению эффективности фаготерапии на 40 % [61].

На данном этапе развития фаготерапии персонализированный подбор фагов доступен лишь в городах, в которых налажено взаимодействие между микробиологическими лабораториями медицинских организаций и производителями иммунобиологических препаратов, обладающих библиотекой фагов, — АО НПО «Микроген» и НПЦ «Микромир». Важно учитывать, что временной интервал от момента выделения клинически значимого бактериального штамма до изготовления персонализированного коктейля фагов исчисляется неделями. Следовательно, персонализированная фаготерапия в ее нынешнем понимании актуальна для лечения хронических бактериальных инфекций. Однако в качестве объекта персонализации можно рассматривать не конкретного пациента, а отделение или медицинскую организацию в целом. Такой подход позволит производителям бактериофагов подготавливать фаговый коктейль, «персонализированный» для отделения или медицинской организации, исходя из их эпидемиологической обстановки и циркулирующих штаммов бактериальных изолятов.

Источники получения фагов

Сточные воды муниципальных канализаций являются основным материалом для первичного выделения бактериофагов, используемых в коммерческих растворах [62]. Несмотря то, что в сточных водах циркулирует широкий видовой и фенотипический диапазон бактерий, доля антибиотикорезистентных возбудителей инфекций, связанных с оказанием

медицинской помощи, среди них низкая, а в основном преобладают возбудители кишечных инфекций [63]. По нашему мнению, перспективным направлением развития фаготерапии является использование в качестве источника для первичного выделения бактериофагов смывных вод с ожоговых и хронических ран, колонизированных антибиотикорезистентной микрофлорой, а также с рабочих поверхностей перевязочной, операционной, палат интенсивной терапии, систем искусственной вентиляции легких, отработанного перевязочного материала. Выделение бактериофагов из материала, полученного с поверхностей, контаминированных госпитальными штаммами, позволит получить «аллобактериофаги», диапазон литической активности которых будет ориентирован на штаммы бактерий, обладающих экстремальной и панрезистентностью к антибактериальным препаратам, а также являющихся возбудителями инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Однако представленная гипотеза требует экспериментального и клинического подтверждения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки

Funding. The study had no sponsorship.

Заключение

Таким образом, многочисленные литературные данные свидетельствуют, что фаготерапия — эффективный и безопасный метод лечения инфекций ожоговых ран, вызванных антибиотикорезистентными патогенами. Вместе с тем внимание Правительства Российской Федерации к проблеме распространения антибиотикорезистентности и разработка стратегии усовершенствования методов профилактики и лечения инфекционных заболеваний с помощью бактериофагов являются стимулом для научного сообщества к проведению исследований и клинического применения бактериофагов для борьбы с антибиотикорезистентными возбудителями инфекции. Целесообразно на основании мирового опыта применения бактериофагов активизировать исследования, касающиеся возможности их системного/местного/парентерального применения как в монорежиме, так и в комбинации с противомикробными препаратами, пробиотиками для повышения эффективности лечения пациентов с ожоговыми ранами.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Vigani A., Culler C. A. Systemic and Local Management of Burn Wounds. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2017; 47 (6): 1149–1163.
- Jeschke M. G., van Baar M. E., Choudhry M. A., et al. Burn injury. *Nat Rev Dis Primers.* 2020; 6 (1): 11.
- Tsai S. Y., Lio C. F., Yao W. C., et al. Cost-drivers of medical expenses in burn care management. *Burns.* 2020; 46 (4): 817–824.
- Stewart W. H. New challenges in public health in The United States of America. *Bol Oficina Sanit Panam.* 1967; 62 (1): 53–56.
- Baquero F., Martínez J. L., F. Lanza V., et al. Evolutionary Pathways and Trajectories in Antibiotic Resistance. *Clin Microbiol Rev.* 2021; 34 (4): e0005019.
- Усенко Д. В. Антибиотик-индуцированные изменения микробиома желудочно-кишечного тракта и их коррекция. *РМЖ.* 2018; 2 (2): 96–99. [Usenko D. V. Antibiotic-induced changes in the microbiome of the gastrointestinal tract and their correction = Usenko D. V. Antibiotik-inducirovannye izmeneniya mikrobioma zheludочно-kishechnogo trakta i ih korrekciya. *RMZh.* 2018; 2 (2): 96–99. (In Russ.)]
- Привольнев В. В., Зубарева Н. А., Каракулина Е. В. Местное лечение раневой инфекции: антисептики или антибиотики? Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017; 19 (2): 131–138. [Privolnev V. V., Zubareva N. A., Karakulina E. V. Local treatment of wound infection: antiseptics or antibiotics? = Privolnev V. V., Zubareva N. A., Karakulina E. V. Mestnoye lecheniye raney infektsii: antiseptiki ili antibiotiki? *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya.* 2017; 19 (2): 131–138. (In Russ.)]
- Schooley R. T., Biswas B., Gill J. J., et al. Development and Use of Personalized Bacteriophage-Based Therapeutic Cocktails To Treat a Patient with a Disseminated Resistant *Acinetobacter baumannii* Infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017; 61 (10): e00954–17.
- Ferry T., Kolenda C., Laurent F., et al. Personalized bacteriophage therapy to treat pandrug-resistant spinal *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Nat Commun.* 2022; 13 (1): 4239.
- Azevedo M. M., Pina-Vaz C., Rodrigues A. G. The Role of Phage Therapy in Burn Wound Infections Management: Advantages and Pitfalls. *J Burn Care Res.* 2022; 43 (2): 336–342.
- Edlich R. F., Rodeheaver G. T., Spengler M., et al. Practical bacteriologic monitoring of the burn victim. *Clin Plast Surg.* 1977; 4 (4): 561–569.
- Mayhall C. G. The epidemiology of burn wound infections: then and now. *Clin Infect Dis.* 2003; 37 (4): 543–550.
- Cambiaso-Daniel J., Gallagher J. J., Norbury W. B., et al. Treatment of infection in burn patients. In: *Total Burn Care.* Herndon D. N., ed. 5th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Inc.; 2018. pp. 93–113.
- Белобородов В. Б., Голощапов О. В., Гусаров В. Г. и др. Методические рекомендации Российской некоммерческой общественной организации «Ассоциация анестезиологов-реаниматологов», Межрегиональной общественной организации «Альянс клинических химиотерапевтов и микробиологов», Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ), общественной организации «Российский Сепсис Форум»

«Диагностика и антимикробная терапия инфекций, вызванных полирезистентными штаммами микроорганизмов» (обновление 2022 г.). Вестник анестезиологии и реаниматологии. 2022; 19 (2): 84–114. [Beloborodov V. B., Goloshchapov O. V., Gusarov V. G., et al. Methodological recommendations of the Russian non-profit public Organization "Association of Anesthesiologists-Resuscitators", Interregional Public Organization "Alliance of Clinical Chemotherapists and Microbiologists", Interregional Association for Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy (MCMAH), public organization "Russian Sepsis Forum" "Diagnostics and antimicrobial therapy of infections caused by polyresistant strains of microorganisms" (update 2022) = Beloborodov V. B., Goloshchapov O. V., Gusarov V. G., et al. Metodicheskiye rekomendatsii Rossiyskoy nekommercheskoy obshchestvennoy organizatsii "Assotsiatsiya anesteziologov-reanimatologov", Mezhhregional'noy obshchestvennoy organizatsii "Al'yans klinicheskikh khimioterapevtov i mikrobiologov", Mezhhregional'noy assotsiatsii po klinicheskoy mikrobiologii i antimikrobnoy khimioterapii (MAKMAKH), obshchestvennoy organizatsii "Rossiyskiy Sepsis Forum" "Diagnostika i antimikrobnaya terapiya infektsiy, vyzvannykh polirezistentnymi shtammami mikroorganizmov" (obnovleniye 2022 g.). Vestnik anesteziologii i reanimatologii. 2022; 19 (2): 84–114. (In Russ.)]

15. Li Z., Xie J., Yang J., et al. Pathogenic Characteristics and Risk Factors for ESKAPE Pathogens Infection in Burn Patients. Infect Drug Resist. 2021; 14: 4727–4738.

16. Babushkina I. V., Bondarenko A. S., Ulyanov V. Y., et al. Biofilm Formation by Gram-Negative Bacteria during Implant-Associated Infection. Bull Exp Biol Med. 2020; 169 (3): 365–368.

17. Williams M. Wound infections: an overview. Br J Community Nurs. 2021; 26 (6): S22–S25.

18. Белобородова Н. В., Черненькая Т. В., Богданов М. Б. Алгоритмы антибиотикотерапии в эпоху антибиотикорезистентности. М., 2019. 356 с. [Beloborodova N. V., Chernenkaya T. V., Bogdanov M. B. Algorithms of antibiotic therapy in the era of antibiotic resistance = Beloborodova N. V., Chernenkaya T. V., Bogdanov M. B. Algoritmy antibiotikoterapii v epohu antibiotikorezistentnosti. M., 2019. 356 s. (In Russ.)]

19. Ladhani H. A., Yowler C. J., Claridge J. A. Burn Wound Colonization, Infection, and Sepsis. Surg Infect (Larchmt). 2021; 22 (1): 44–48.

20. Wanis M., Walker S. A. N., Daneman N., et al. Impact of hospital length of stay on the distribution of Gram-negative bacteria and likelihood of isolating a resistant organism in a Canadian burn center. Burns. 2016; 42 (1): 104–111.

21. Барсук А. Л., Ловцова Л. В., Некаева Е. С. и др. Современное состояние и перспективы антибиотикопрофилактики у пациентов, перенесших ожоговую травму. Саратовский научно-медицинский журнал. 2019; 15 (1): 108–113. [Barsuk A. L., Lovtsova L. V., Nechaeva E. S., et al. The current state and prospects of antibiotic prophylaxis in patients who have suffered a burn injury = Barsuk A. L., Lovtsova L. V., Nechaeva E. S. i dr. Sovremennoe sostoyanie i perspektivy antibiotikoprofilaktiki u pacientov, perenesshih ozhogovuyu travmu. Saratovskiy nauchno-medicinskiy zhurnal. 2019; 15 (1): 108–113. (In Russ.)]

22. Sharma S., Tripathi P. Gut microbiome and type 2 diabetes: where we are and where to go? J Nutr Biochem. 2019; 63: 101–108.

23. Kim H. J., Lee S. H., Hong S. J. Antibiotics-Induced Dysbiosis of Intestinal Microbiota Aggravates Atopic Dermatitis in Mice by Altered Short-Chain Fatty Acids. Allergy Asthma. Immunol Res. 2020; 12 (1): 137–148.

24. Lee J. Y., Cevallos S. A., Byndloss M. X., et al. High-Fat Diet and Antibiotics Cooperatively Impair Mitochondrial Bioenergetics to Trigger Dysbiosis that Exacerbates Pre-inflammatory Bowel Disease. Cell Host Microbe. 2020; 28 (2): 273–284.e6.

25. Ramirez J., Guarner F., Bustos Fernandez L., et al. Antibiotics as Major Disruptors of Gut Microbiota. Front Cell Infect Microbiol. 2020; 10: 572912.

26. Tomic-Canic M., Burgess J. L., O'Neill K. E., et al. Skin Microbiota and its Interplay with Wound Healing. Am J Clin Dermatol. 2020; 21 (1): 36–43.

27. Ожоги термические и химические. Ожоги солнечные. Ожоги дыхательных путей. Национальные клинические рекомендации. М., 2021. 179 с. [Thermal and chemical burns. Sun burns. Burns of the respiratory tract = Ozhogi termicheskie i himicheskie. Ozhogi solnechnye. Ozhogi dyhatel'nyh putej. Nacional'nye klinicheskie rekomendatsii. M., 2021. 179 s. (In Russ.)]

28. Cooper M. The cytotoxic effects of commonly used topical antibacterial agents on human fibroblasts and keratinocytes. J Trauma. 1991; 1: 782–784.

29. Thomas G., Rael L., Bar-Or R. Mechanisms of delayed wound healing by commonly used antiseptics. J Trauma. 2009; 66: 82–91.

30. Cold F., Olsen N. S., Hansen L. H., et al. Bacteriophage therapy. Ugeskr Laeger. 2020; 182 (27): 01200041.

31. Асланов Б. И., Зуева Л. П., Пунченко О. Е. и др. Рациональное применение бактериофагов в лечебной и профилактической практике. Методические рекомендации. М., 2022. 32 с. [Aslanov B. I., Zueva L. P., Punchenko O. E., et al. Rational use of bacteriophages in therapeutic and antiepidemic practice = Aslanov B. I., Zueva L. P., Punchenko O. E. i dr.

Racional'noe primeneniye bakteriofagov v lechennoy i protivoepidemicheskoy praktike. Metodicheskiye rekomendatsii. M., 2022. 32 s. (In Russ.)]

32. Torres-Barceló C. The disparate effects of bacteriophages on antibiotic-resistant bacteria. Emerg Microbes Infect. 2018; 7 (1): 168.

33. d'Herelle F. Bacteriophage as a Treatment in Acute Medical and Surgical Infections. Bull N Y Acad Med. 1931; 7 (5): 329–348.

34. Dąbrowska K., Abedon S. T. Pharmacologically Aware Phage Therapy: Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Obstacles to Phage Antibacterial Action in Animal and Human Bodies. Microbiol Mol Biol Rev. 2019; 83 (4): e00012–19.

35. Пасхалова Ю. С. Стратегия комплексного лечения нейроишемической формы синдрома диабетической стопы при критической ишемии и наличии резистентных форм возбудителей гнойной инфекции с применением бактериофагов на примере клинического наблюдения. Раны и раневые инфекции. Журнал им. проф. Б. М. Костюченко. 2022; 9 (3): 38–45. [Paskhalova Yu. S. Strategy of complex treatment of the neuroischemic form of diabetic foot syndrome in critical ischemia and the presence of resistant forms of pathogens of purulent infection with the use of bacteriophages on the example of clinical observation = Paskhalova Yu. S. Strategiya kompleksnogo lecheniya neuroishemicheskoy formy sindroma diabeticheskoy stopy pri kriticheskoy ishemii i nalichii rezistentnykh form vzbuditeley gnoynoy infektsii s primeneniye bakteriofagov na primere klinicheskogo nablyudeniya. Rany i ranevyye infektsii. Zhurnal im. prof. B. M. Kostyuchonka. 2022; 9 (3): 38–45. (In Russ.)]

36. Jault P., Leclerc T., Jennes S., et al. Efficacy and tolerability of a cocktail of bacteriophages to treat burn wounds infected by Pseudomonas aeruginosa (PhagoBurn): a randomised, controlled, double-blind phase 1/2 trial. Lancet Infect Dis. 2019; 19 (1): 35–45.

37. Merabishvili M., Monserez R., van Bellegem J., et al. Stability of bacteriophages in burn wound care products. PLoS One. 2017; 12 (7): e0182121.

38. Nogueira F., Karumidze N., Kusradze I., et al. Immobilization of bacteriophage in wound-dressing nanostructure. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. 2017; 13 (8): 2475–2484.

39. Cheng W., Zhang Z., Xu R., et al. Incorporation of bacteriophages in polycaprolactone/collagen fibers for antibacterial hemostatic dual-function. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2018; 106(7): 2588–2595.

40. Chang R. Y. K., Okamoto Y., Morales S., et al. Hydrogel formulations containing non-ionic polymers for topical delivery of bacteriophages. Int J Pharm. 2021; 605: 120850.

41. Бесчастнов В. В., Юданова Т. Н., Рябков М. Г. и др. Патент № 2687108 C1

- Российская Федерация, МПК А61L 15/36, А61K 35/76. Способ профилактики инфекционных процессов при свободной кожной пластике: № 2018139554: заявл. 09.11.2018: опубл. 07.05.2019. [Beschastnov V. V., Yudanov T. N., Ryabkov M. G., et al. Patent No. 2687108 C1 Russian Federation, IPC A61L 15/36, A61K 35/76. Method of prevention of infectious processes with free skin grafting = Patent № 2687108 C1 Rossiyskaya Federatsiya, MPK A61L 15/36, A61K 35/76. Spособ profilaktiki infektsionnykh protsessov pri svobodnoy kozhnoy plastike: № 2018139554: zayavl. 09.11.2018: opubl. 07.05.2019. (In Russ.)]
42. Międzybrodzki R., Borysowski J., Weber-Dąbrowska B., et al. Clinical aspects of phage therapy. *Adv Virus Res.* 2012; 83: 73–121.
43. Alverdy J. C., Hyman N., Gilbert J. R. Examining causes of surgical site infections following elective surgery in the era of asepsis. *Lancet Infect Dis.* 2020; 20 (3): e38–e43.
44. Gosain A., Gamelli R. L. Role of the gastrointestinal tract in burn sepsis. *J Burn Care Rehabil.* 2005; 26 (1): 85–91.
45. Szermer-Olearnik B., Boratyński J. Removal of endotoxins from bacteriophage preparations by extraction with organic solvents. *PLoS One.* 2015; 10 (3): e0122672.
46. Speck P., Smithyman A. Safety and efficacy of phage therapy via the intravenous route. *FEMS Microbiol Lett.* 2016; 363 (3): fmv242.
47. Murray C. K. Infections in Burns. *J Trauma.* 2007; 62 (6 Suppl): S73.
48. Duan Y., Young R., Schnabl B. Bacteriophages and their potential for treatment of gastrointestinal diseases. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2022; 19 (2): 135–144.
49. Danis-Włodarczyk K., Dąbrowska K., Abedon S. T. Phage Therapy: The Pharmacology of Antibacterial Viruses. *Curr Issues Mol Biol.* 2021; 40: 81–164.
50. Zelasko S., Gorski A., Dąbrowska K. Delivering phage therapy per os: benefits and barriers. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2017; 15 (2): 167–179.
51. Nadareishvili L., Hoyle N., Nakaidze N., et al. Bacteriophage Therapy as a Potential Management Option for Surgical Wound Infections. *Phage (New Rochelle).* 2020; 1 (3): 158–165.
52. Luria S. E., Delbruck M. Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance. *Genetics.* 1943; 28: 491–511.
53. Dennehy J. J. What can phages tell us about host-pathogen coevolution? *Int J Evol Biol.* 2012; 2012: 396165.
54. Nepal R., Houtak G., Wormald P. J., et al. Prophage: a crucial catalyst in infectious disease modulation. *Lancet Microbe.* 2022; 3 (3): e162–e163.
55. Zhvania P., Hoyle N. S., Nadareishvili L., et al. Phage Therapy in a 16-Year-Old Boy with Netherton Syndrome. *Front Med (Lausanne).* 2017; 4: 94.
56. Steele A., Stacey H. J., de Soir S., et al. The Safety and Efficacy of Phage Therapy for Superficial Bacterial Infections: A Systematic Review. *Antibiotics (Basel).* 2020; 9 (11): 754.
57. Villarreal L. P. Overall issues of virus and host evolution. In: *Viruses and the evolution of life.* Washington DC: ASM Press; 2005. p. 383.
58. Merabishvili M., Pirnay J. P., De Vos D. Guidelines to Compose an Ideal Bacteriophage Cocktail. *Methods Mol Biol.* 2018; 1693: 99–110.
59. Бочкарева С. С., Караулов А. В., Алешкин А. В. и др. Методические подходы к оценке некоторых параметров гуморального и клеточного иммунного ответа на бактериофаги. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2019; 64 (4): 237–242. [Bochkareva S. S., Karaulov A. V., Aleshkin A. V., et al. Methodological approaches to the assessment of some parameters of the humoral and cellular immune response to bacteriophages = Bochkareva S. S., Karaulov A. V., Aleshkin A. V. i dr. Metodicheskiye podkhody k otsenke nekotorykh parametrov gumoral'nogo i kletoch'nogo immunnogo otveta na bakteriofagi. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2019; 64 (4): 237–242. (In Russ.)]
60. Friman V. P., Soanes-Brown D., Sierocinski P., et al. Pre-adapting parasitic phages to a pathogen leads to increased pathogen clearance and lowered resistance evolution with *Pseudomonas aeruginosa*. *J Evol Biol.* 2016; 29: 188–198.
61. Алешкин А. В., Селькова Е. П., Ершова О. Н. и др. Концепция персонализированной фаготерапии пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии, страдающих инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи. *Фундаментальная и клиническая медицина.* 2018; 3 (2): 66–74. [Aleshkin A. V., Selkova E. P., Ershova O. N., et al. The concept of personalized phage therapy for patients of the intensive care unit and intensive care unit suffering from infections associated with the provision of medical care = Aleshkin A. V., Sel'kova E. P., Ershova O. N. i dr. Kontsepsiya personalizirovannoy fagoterapii patsiyentov otdeleniya reanimatsii i intensivnoy terapii, stradayushchikh infektsiyami, svyazannymi s okazaniyem meditsinskoj pomoshchi. *Fundamental'naya i klinicheskaya meditsina.* 2018; 3 (2): 66–74 (In Russ.)]
62. Nair A., Ghugare G. S., Khairnar K. An Appraisal of Bacteriophage Isolation Techniques from Environment. *Microb Ecol.* 2022; 83 (3): 519–535.
63. Zhang L., Shen Z., Fang W., et al. Composition of bacterial communities in municipal wastewater treatment plant. *Sci Total Environ.* 2019; 689: 1181–1191.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Тулупов Александр Андреевич — младший научный сотрудник Университетской клиники «ПИМУ» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия
ORCID: 0000-0001-6567-7803

Tulupov Alexander Andreevich — junior researcher at the University Clinic “PIMU” of the Ministry of Health of Russia, Nizhny Novgorod, Russia

Бесчастнов Владимир Викторович — доктор медицинских наук, профессор, старший научный сотрудник Университетской клиники «ПИМУ» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия
ORCID: 0000-0002-9332-3858

Beschastnov Vladimir Viktorovich — Doctor of Medical Sciences, Professor, senior researcher at the University Clinic “PIMU” of the Ministry of Health of Russia, Nizhny Novgorod, Russia

Авторы:

А. А. Тулупов, В. В. Бесчастнов

Authors:

A. A. Tulupov, V. V. Beschastnov

Участие авторов:

Концепция и дизайн — А. А. Тулупов
Сбор и обработка материала — А. А. Тулупов, В. В. Бесчастнов
Написание текста — А. А. Тулупов
Редактирование — В. В. Бесчастнов

Author contribution:

Concept and design — A. A. Tulupov
Material collection and processing — A. A. Tulupov, V. V. Beschastnov
Text writing — A. A. Tulupov
Editing — V. V. Beschastnov