

Е.О. Бахрушина¹, М.Н. Анурова^{1, 2}, А.В. Алешкин²,
Н.Б. Демина¹, И.И. Краснюк¹,
Н.В. Пятигорская¹, В.В. Береговых^{1, 3}



¹ Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова
(Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация

² Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского,
Москва, Российская Федерация

³ Российская академия наук, Москва, Российская Федерация

Современные тенденции применения и создания лекарственных препаратов бактериофагов

В статье рассмотрены основные направления использования бактериофагов в качестве альтернативы или дополнения к антибиотикотерапии. Авторы дают характеристику препаратам бактериофагов и парфюмерно-косметическим продуктам, содержащим бактериофаги, представленным на фармацевтическом рынке Российской Федерации. Отмечается, что узкий ассортимент как лекарственных препаратов, так и косметических средств с бактериофагами снижает комплаентность пациентов и затрудняет проведение фаготерапии. Рассматриваются перспективы и алгоритмы экстремального изготовления лекарственных форм с бактериофагами для персонализированной терапии, разрабатываемые в странах Европы, США, Китае, Российской Федерации. Анализ научных публикаций по основным международным базам данных свидетельствует об интересе разработчиков к проблеме создания новых препаратов с бактериофагами со стабильным титром в различных лекарственных формах для перорального, наружного, местного, а также парентерального введения. Выделяются основные научные тенденции в разработке лекарственных форм — стабилизация литической активности фагов с помощью компонентов лекарственной формы и создание систем доставки бактериофагов. Одной из общемировых проблем фармацевтической разработки препаратов бактериофагов является недостаточная нормативная база. В Российской Федерации к решению этой проблемы подходят путем принятия и внедрения в производственную и клиническую практику методических указаний и клинических рекомендаций, а также регламентации на уровне основного стандарта качества лекарственных средств. В 2018 г. впервые в Государственную фармакопею Российской Федерации введены общая фармакопейная статья на «Бактериофаги лечебно-профилактические» и частные фармакопейные статьи на основные бактериофаги и их коктейли, производимые российской промышленностью. Таким образом, в настоящее время в Российской Федерации создается нормативно-правовая база, с помощью которой расширение ассортимента лекарственных форм и путей введения бактериофагов, экстремальное изготовление эффективных и стабильных препаратов наряду с их промышленным производством видится реализуемой задачей.

Ключевые слова: бактериофаги, фаготерапия, фармацевтическая разработка, биотехнология, персонализированная медицина

Для цитирования: Бахрушина Е.О., Анурова М.Н., Алешкин А.В., Демина Н.Б., Краснюк И.И., Пятигорская Н.В., Береговых В.В. Современные тенденции применения и создания лекарственных препаратов бактериофагов. *Вестник РАМН*. 2021;76(4):351–360. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn1380>

Принято считать, что бактериофаги — «невидимые антагонисты бактерий» — были открыты независимо друг от друга английским ученым Ф. Туортом в 1915 г. и французским исследователем Ф. д'Эреллем в 1917 г., когда и было положено начало их изучению и применению в терапии инфекционных заболеваний. При этом сам феномен лизиса бактериальных клеток наблюдал еще в 1897 г. российский микробиолог Н.Ф. Гамалея, описав лизис *Bacillus anthracis* «неизвестным перевиваемым агентом», не указывая, однако, на его вирусную природу [1, 2].

Первым опытом применения бактериофагов были лекарственные формы для терапии дизентерии, которые Ф. д'Эрелль разработал и ввел в практику лечения солдат в период Первой мировой войны. В первой половине XX в. внедрение бактериофагов в клиническую практику велось активно, в результате чего были получены сведения об успешном применении их в терапии холеры, брюшного тифа и дизентерии.

Первая научная публикация А. Флеминга от 1922 г. о лизидиме и выделенном из грибов *Penicillium notatum* пенициллине обозначила начало «эры антибиотиков» и на многие годы отодвинула приоритет исследований бактериофагов на второй план. Тогда антибиотики по-

считали более эффективными и простыми для использования в терапии раневых бактериальных инфекций, и интерес к изучению бактериофагов продолжал поддерживаться лишь в немногих странах, среди которых СССР, где производство препаратов бактериофагов было впервые осуществлено в промышленных масштабах (Тбилисский институт бактериофагов, Грузинская ССР).

В период многочисленных военных кампаний и экстренных ситуаций советские специалисты культивировали, производили и внедряли в клиническую практику стафилококковый, стрептококковый, холерный, сальмонеллезный и шигеллезный бактериофаги. Препараты бактериофагов использовались не только в терапии раневых процессов, осложненных бактериальной инфекцией, но и для профилактики гнойных осложнений. В период Великой Отечественной войны в СССР впервые был использован комплексный препарат, представляющий собой коктейль бактериофагов, так называемый *пиобактериофаг* (*Puobacteriophage combined*). В настоящий момент Российской Федерацией имеет самый богатый опыт применения лечебных и профилактических бактериофагов. Изучением возможностей фаготерапии занимаются также исследователи в США, Англии, Польше и других странах [1–3].

Таблица 1. Лекарственные препараты бактериофагов, зарегистрированные на территории Российской Федерации, производства АО «НПО Микроген»

Препарат	Регистрационный номер	Лекарственная форма
Бактериофаг колипротейный	ЛС-001998	Раствор для приема внутри, местного и наружного применения
Бактериофаг стафилококковый	P N001973/01	
Бактериофаг псевдомонас аеругиноза (синегнойный)	P N001976/01	
Секстафаг® (Пиобактериофаг)	ЛС-001049	
Пиобактериофаг поливалентный очищенный	ЛС-002031	
Бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный	ЛС-001361	
Бактериофаг клебсиелл пневмонии очищенный	ЛС-001297	
Пиобактериофаг комплексный	ЛС-000700	
Бактериофаг протейный	P N001975/01	
Бактериофаг стрептококковый	P N001974/01	
Бактериофаг сальмонеллезный групп ABCDE	ЛС-000624	
Бактериофаг коли	P N001977/01	
Бактериофаг сальмонеллезный групп ABCDE	ЛС-002206	
Бактериофаг дизентерийный поливалентный	P N002560/01	
Бактериофаг сальмонеллезный групп ABCDE	ЛС-002206	Таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой
Бактериофаг дизентерийный поливалентный	P N002560/01	
Бактериофаг дизентерийный поливалентный	ЛС-002033	Раствор для приема внутри и ректального введения
Интести®-бактериофаг	ЛС-001999	

352

Фармацевтический рынок препаратов бактериофагов в Российской Федерации

Большинство препаратов бактериофагов, промышленно производимых в Российской Федерации, представляют собой универсальные композиции в жидкой форме — монокомпонентные фаголизаты или их смеси, в некоторых случаях с добавлением консервантов (8-гидроксинолина сульфата, хинозола и др.), предна-

значенные для перорального, местного или наружного применения (табл. 1). Клинические специалисты, использующие эти лекарственные препараты в фаготерапии, отмечают низкую комплаентность пациентов при назначении жидкой формы [4], а главное — в жидких формах зачастую наблюдается падение титров бактериофагов при хранении (вплоть до 3–5 раз), приводящее к значительному снижению эффективности препарата [5, 6].

**E.O. Bakhrushina¹, M.N. Anurova^{1,2}, A.V. Aleshkin², N.B. Demina¹,
I.I. Krasnyuk¹, N.V. Pyatigorskaya¹, V.V. Beregovykh^{1,3}**

¹ Sechenov First Medical University, Moscow, Russian Federation

² Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology G.N. Gabrichevsky Rospotrebnadzor, Moscow, Russian Federation

³ Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Modern Tendencies of the Use and Development of Drugs of Bacteriophages

The article discusses the main uses of bacteriophages as an alternative or supplement to antibiotic therapy. The authors characterize the drugs of bacteriophages and perfume and cosmetic products containing bacteriophages presented on the pharmaceutical market of the Russian Federation. Prospects and algorithms for the extemporal manufacture of medicinal forms with bacteriophages for personalized therapy, developed in countries of Europe, USA, China, Russian Federation are considered. The analysis of scientific publications on the main international databases shows the interest of the developers in the problem of the creation of new bacteriophages preparations with stable titer in different medicinal forms for routes of medication administration. One of the problems of pharmaceutical development of such products is the insufficient regulatory framework. It was noted that for the first time in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation a general pharmacopoeidic article “Bacteriophages medicinal-prophylactic” and private pharmacopoeidic articles about the main bacteriophages and their cocktails produced by the Russian industry were introduced. It has been shown that expansion of the range of medicinal forms and ways of introducing bacteriophages, extemporal manufacture of effective and stable preparations along with their industrial production — an attainable task.

Keywords: bacteriophages, phage therapy, drug design, biotechnology, personalized medicine

For citation: Bakhrushina EO, Anurova MN, Aleshkin AV, Demina NB, Krasnyuk II, Pyatigorskaya NV, Beregovykh VV. Modern Tendencies of the Use and Development of Drugs of Bacteriophages. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2021;76(4):351–360. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn1380>

Таблица 2. Парфюмерно-косметические средства с бактериофагами, зарегистрированные на территории Российской Федерации

Наименование	Регистрационный номер декларации о соответствии / номер государственной регистрации	Назначение	Состав коктейля бактериофагов
Фагодент®	RU Д-RU.A.Ж23.В.Ф0830	Гигиенические процедуры для полости рта	56 видов бактериофагов против 19 инфекций
Фагодерм®	RU Д-RU.AE96.В.01343/20	Гигиена и нормализация микрофлоры кожи и мягких тканей	47 видов бактериофагов против 16 инфекций
Фагогин®	KZ.18.01.79.001.E.003056.10.13	Средство для интимной гигиены	40 видов бактериофагов против 13 инфекций
Отофаг®	RU Д-RU.AЮ.18.В.02380/20	Гигиена и нормализация микрофлоры ЛОР-органов	32 видов бактериофагов против 12 инфекций

Зарегистрированные на территории Российской Федерации парфюмерно-косметические средства для ухода с бактериофагами содержат различные их коктейли и выпускаются в форме гелей с одинаковым составом вспомогательных веществ: гелеобразователь — редкосшитый акриловый полимер карбопол, экстракт календулы, консервант нипазол, вода (табл. 2). Однако сегодня хорошо известно, что эффективность лекарственных препаратов во многом зависит именно от вида и состава лекарственной формы, которые должны соответствовать способу введения, максимально раскрывать терапевтическое действие препарата и обеспечивать приверженность пациента к соблюдению правил медикаментозной терапии, не вызывая негативных реакций.

Перспективы для персонализированной терапии

В то время как в Российской Федерации имеется продолжительная практика промышленного производства препаратов бактериофагов, в Европе до сих пор решается вопрос, должны ли препараты бактериофагов производиться промышленно или экстемпорально. В поддержку идеи экстемпорального изготовления препаратов бактериофагов приводятся следующие доводы: для таких препаратов неприемлемы маркетинг и реклама; ограниченные одним пациентом объем серии и срок хранения будут способствовать поддержанию стабильности титра бактериофага в препарате, изготовленном без использования сложных технологических приемов; отсутствие патентной защиты на субстанцию иммунобиологического происхождения (а только на способ ее получения и очистки) будет давать фармацевтическим компаниям необоснованную прибыль; на основе использования экстемпоральных препаратов возможна реализация персонализированного подхода к лечению пациентов [7, 8].

В некоторых европейских государствах были предприняты попытки разработки проектов руководств, издания практических монографий, посвященных изготовлению бактериофагов и препаратов на их основе.

По мнению специалистов, платформой для организации персонализированного подхода является создание общего банка (библиотеки) бактериофагов. Это позволит предотвратить нежелательные изменения литического действия фагов, так как их культивирование из клинического материала будет проводиться согласно утвержденным стандартным процедурам и методикам. Серия про-

дукта, сопровождаемая результатами оценки качества, передается в больничную аптеку для включения в лекарственные формы и дальнейшего использования в персонализированной терапии. Известны алгоритмы организации персонализированного подхода к проведению фаготерапии, использующиеся в Российской Федерации, Бельгии, Китае. Все они включают в себя следующие этапы: выделение бактерий-возбудителей из клинического материала пациента; выбор бактериофага из библиотеки (коллекции) соотносительно с чувствительностью возбудителя к нему; стандартизация бактериофага (коктейля бактериофагов) согласно принятым нормативными документами характеристикам (литическая активность, чистота, бактериальный эндотоксин); введение в состав лекарственной формы, выбранной согласно способу введения и локализации воспалительного процесса; наблюдение за эффективностью фаготерапии — мониторинг эффективности фаговой терапии, обнаружение появления устойчивых к фагам штаммов. В разработанном отечественными специалистами алгоритме также присутствует этап определения антифагового иммунного ответа с учетом различной чувствительности возбудителя к препаратам бактериофагов разных серий как дополнительный инструмент скрининга иммунобиологической субстанции перед введением в систему доставки. Этот алгоритм был успешно апробирован на клинических базах Национального медицинского исследовательского центра нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко (Москва) и Государственной клинической больницы № 67 им. Л.А. Ворохобова (Москва), а также в отделении кардиоторакальной, трансплантационной и сосудистой хирургии Ганноверской медицинской школы [4, 9].

В настоящее время не существует официальных руководящих принципов в отношении клинического использования (например, медицинских показаний, составов и нозологии) лекарственных препаратов бактериофагов экстемпорального изготовления. Тем не менее экспертами военного госпиталя им. Королевы Астрид в Брюсселе, Федерального агентства по лекарственным средствам и изделиям медицинского назначения Бельгии (Federal Agency for Medicines and Health Products; FAMHP) и Бельгийского научного института общественного здравоохранения были даны практические рекомендации в виде монографии для разработчиков бактериофагов как активных фармацевтических субстанций с ограниченным статусом использования (для внутрибольничных аптек), которую планируется дополнить и внедрить в ближайшее время как в Бельгии, так и, возможно, на европейском уровне [7].

Поиск новых препаратов бактериофагов

Согласно проведенному патентному и научному поиску по базам PubMed, Scopus, Web of Science (ключевые слова: *bacteriophages*; *dosages form*; *drug design*; *drug delivery*), интерес исследователей к разработке новых лекарственных форм бактериофагов в последние десятилетия растет. За период с 2000 по 2021 г. в Федеральном институте промышленной собственности зарегистрировано 42 патента на фармацевтические композиции бактериофагов в 12 различных лекарственных формах для перорального, наружного, местного, ингаляционного, а также парентерального применения. Наибольшие доли из общего количества запатентованных композиций с бактериофагами приходятся на таблетки (25%), растворы (17%) и гели (14%). Это объясняется широкой распространенностью перорального введения бактериофагов, а также оптимальными потребительскими характеристиками и высокой степенью разработанности технологии этих лекарственных форм.

Несмотря на многолетний опыт терапии, сопровождающейся пероральным приемом бактериофагов, и большое количество зарегистрированных в Российской Федерации препаратов для перорального применения (см. табл. 2), фармакокинетика бактериофагов при приеме внутрь остается до конца не изученной. До сих пор не накоплен достаточный опыт изучения побочных эффектов, опосредованных применением бактериофагов. В 2021 г. было опубликовано исследование М. Gangwar et al. [10], описывающее изучение побочных реакций и иммунного ответа после однократного введения бактериофага *Klebsiella pneumoniae* XDR в дозах 10^{15} и 10^{20} БОЕ/мл крысам Charles Foster (в исследовании острой токсичности) и суточной дозы в течение 28 дней (при исследовании подострой токсичности). Полученные данные свидетельствуют об отсутствии различий в гематологическом, биохимическом и цитокиновом профиле по сравнению с контрольной группой. При макроскопическом и гистопатологическом исследовании никаких значительных изменений ни в одной из групп не наблюдалось. Длительное пероральное введение бактериофагов также не вызывало заметного иммунного ответа.

Пероральный прием препаратов бактериофагов отягощен необходимостью защиты иммунобиологической активной фармацевтической субстанции от кислой среды желудка. В диссертационной работе Н.А. Ковязиной приводится сравнительная фармакокинетика коктейля бактериофагов *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Proteus*, *Kl. pneumoniae* после перорального приема в традиционной жидкой и твердой кислоторезистентной форме, полученной методом сухого гранулирования с последующим таблетированием. Исследования показали, что при пероральном введении лабораторным животным происходят всасывание бактериофагов в кровь, циркуляция в организме и выведение с мочой и каловыми массами. Независимо от лекарственной формы все компоненты коктейля бактериофагов обнаруживались в сыворотке крови, моче и кале уже через 2 ч после приема препаратов. Однако при введении таблетированной кислоторезистентной формы наблюдали в 2–3 раза большее проявление литической активности коктейля бактериофагов в сравнении с референсной жидкой формой [11]. На основании полученных данных можно сделать вывод о лабильности бактериофагов в кислой среде желудка.

В настоящее время разработка кислоторезистентных твердых лекарственных форм ведется параллельно

учеными из России, Великобритании, Италии и США [11–19]. В университете Лафборо (Loughborough University, Leicestershire, England) исследования под руководством Г.К. Виннер продемонстрировали положительный опыт использования технологии микрокапсулирования и мембранного эмульгирования для создания кислотостойчивой твердой фармацевтической композиции для перорального приема, содержащей бактериофаг Felix O1, специфичный для *Salmonella* [16], или бактериофаг *E. coli* [12].

В статье G.K. Vinner et al. [13] описано получение таблетированной лекарственной формы путем прессования из предварительно полученного распылительной сушкой гранулята на основе Eudragit® S100 и трегалозы. В ходе эксперимента выдвинута гипотеза о том, что добавление трегалозы в состав гранулята защищает бактериофаги от повышенных температур и высыхания, возникающих во время распылительной сушки. Показано, что прессование высушенных распылением инкапсулированных фагов в таблетки значительно улучшает их стабильность при воздействии искусственной желудочной жидкости по сравнению с микрокапсулами, полученными в работе [14].

В своей последней работе, опубликованной в 2021 г., исследовательская команда университета Лафборо продемонстрировала успешное применение технологий мембранного эмульгирования и тройного инкапсулирования для контролируемого высвобождения в определенном локусе ЖКТ (при pH 5,5; 6 и 7) на примере бактериофага *E. coli* [17].

Группа ученых из Политехнического университета Вирджинии (Virginia Tech, Blacksburg, USA) и медицинской школы Гарварда (Harvard Medical School, Boston, USA) в своем многопрофильном исследовании [18] показала возможность нарушения экспрессии генов *E. coli in situ* после однократного перорального введения умеренного фага λ , экспрессирующего программируемый dCas9. Для инкапсуляции методом влагоактивизированного гранулирования суспензией бактериофага в буферном растворе получали альгинатное ядро, которое затем покрывали растворами полиэтиленимина и пектина с добавлением фагового буфера до образования тонких пленочных слоев по оригинальной технологии Гарвардского университета. Полученная система доставки была изучена *in vivo* на модели самок белых мышей BALB на предмет эффективности инкапсулированного бактериофага (по подавлению флуоресценции) и количественной оценки бактериальной колонизации кишечника после однократного введения системы доставки. После получения положительного заключения об эффективности разработанной системы был сделан вывод об успешной апробации стратегии генетического контроля путем долговременной модификации кишечных бактерий с использованием одной самораспространяющейся дозы.

Перспективны новые разработки систем доставки бактериофагов и в отношении *H. pylori*. Исследование Р. Суомо et al. [19] затрагивает разработку терапевтического средства, фармакологический эффект которого основан на синергичном действии фага *H. pylori* и лактоферрина, адсорбированного на наночастицах гидроксипатита. В ходе исследований *in vitro* было показано, что полученный комплекс является модулятором воспаления, ослабляя активацию фактора транскрипции NF- κ B и, в свою очередь, высвобождение провоспалительных цитокинов, а также эффективно защищает эпителиальные клетки от индуцированного *H. pylori*

окислительного стресса путем активации экспрессии видов антиоксидантов.

Применение бактериофагов в **аэродисперсных лекарственных** формах оправдано серьезной проблемой инфекций, вызванных антибиотикорезистентными штаммами — *P. aeruginosa*, *S. aureus*, поражающих органы дыхания (бактериальные пневмонии, муковисцидоз), дающих высокую летальность. Для фаготерапии разрабатываются препараты в формах интраназальных спреев, аэрозолей, растворов для использования в небулайзерах, а также порошков для ингаляций [20–23].

В исследовании J. Prazak et al. [24], где проводили пульмональную терапию пневмонии с использованием бактериофага *P. aeruginosa*, было показано, что ингаляционно вводимые крысам (с помощью небулайзера) бактериофаги остаются локализованными в легочной ткани и практически не обнаруживаются в других органах. В работе [25] сравнивается ингаляционное и внутрибрюшинное введение бактериофагов *B. ceposepacia* зараженным мышам. Показано, что степень бактериальной нагрузки в пораженных легких после введения бактериофагов двумя альтернативными путями отличается, однако и после внутрибрюшинного введения бактериофаги обнаруживаются в тканях легкого. Для ингаляционного введения используются бактериофаги в виде лиофилизатов и растворов. Лиофильно высушенные бактериофаги вводятся с помощью порошковых или капсульных ингаляторов, а растворы — с помощью небулайзеров и аэрозольных баллонов. Агрегатное состояние бактериофагов как фармацевтической субстанции влияет не только на способ введения, но и на стабильность их титра в процессе хранения и применения. Так, в исследовании S.S.Y. Leung et al. было показано, что струйное распыление способно приводить к механическим повреждениям бактериофагов, в результате чего снижались их титр в органе-мишени и, как следствие, эффективность терапии [26, 27]. Изучали бактериофаги семейств *Podoviridae* (PEV2), *Myoviridae* (PEV40) и *Syphoviridae* (D29) с помощью трансмиссионной электронной микроскопии; выявлены значительные изменения в структурах фагов после струйного распыления, коррелирующие с потерей инфекционности. Таким образом, установлено, что важными параметрами, которые необходимо учитывать при разработке новых эффективных препаратов для ингаляционного введения с помощью небулайзеров, являются размер фаговых частиц, длина хвоста бактериофага, а также тип распылительного устройства и скорость распыления.

Порошки и микрокапсулы для ингаляции являются популярной альтернативой введению жидкой субстанции бактериофагов — более 70% разрабатываемых аэродисперсных препаратов представлены твердыми формами. Однако необходимо отметить, что до сих пор нет полной оценки различия в эффективности ингаляционного введения жидкой и твердой субстанции бактериофагов, поэтому преимущества той или иной альтернативной формы могут базироваться только на стабильности их титра в конкретных композициях.

Хотя фармакокинетика бактериофагов при ингаляционном введении до сих пор до конца не изучена, эффективность аэродисперсных лекарственных форм показана в многих экспериментах *in vivo* [20–25].

Одним из основных широко известных и наиболее востребованных способов применения бактериофагов является **наружное применение** на ожоговых и раневых поверхностях [5, 6].

В исследовании M. Cheng et al. [28] показана возможность использования мази в качестве средства доставки бактериофагов на пораженную поверхность. К адсорбционной мази на основе вазелина и ланолина Aquaphor Healing Ointment® (Beiersdorf AG, Germany), содержащей пантенол в качестве действующего компонента, в условиях внутрибольничной аптеки добавляли фаголизин *S. aureus* LysGH15 и апигенин. Исследование проводилось на животной модели с инфицированной раневой поверхностью. Было показано, что при обработке раны мазью с содержанием фаголизина среднее количество бактериальных колоний уменьшилось примерно до 10^2 КОЕ/мг через 18 ч после обработки, в то время как среднее количество у животных, которые не получали раневую терапию, составило примерно 10^5 КОЕ/мг. Таким образом, показано, что бактериофаги способны высвобождаться из мазевой основы, сохраняя титр, достаточный для фармакологической эффективности.

Для облегчения медицинских манипуляций в раневой и ожоговой фаготерапии в последние десятилетия существенно расширен ассортимент лекарственных форм с бактериофагами для наружного применения — в настоящее время известны как препараты, так и обработки в виде мягких лекарственных форм, губок, пленок, а также наноэмульсий для обработки раневых повязок [29–34].

В работе P.P. Esteban et al. [30] предложено использование прямой наноэмульсии бактериофага *S. aureus*, полученной путем термопотенцированной инверсии фаз, для обработки раневых повязок. Отмечена стабильная литическая активность лекарственной формы в отношении *S. aureus* при хранении при комнатной температуре (18–20 °С) или при температуре ниже 4 °С в течение 10 дней, и установлено существенное влияние эмульгаторов на титр бактериофагов в составе лекарственной формы.

В начале 2000-х гг. в Грузии был разработан лекарственный препарат Phagobioderm™ в форме биоразлагаемой пленки для нанесения на раневую поверхность. За прошедшие десятилетия накоплен положительный клинический опыт его применения в раневой терапии [31]. Phagobioderm™ содержит ципрофлоксацин, анестезин, протеолизический фермент α -химотрипсин, а также коктейль бактериофагов (Пиофаг) *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Proteus*. Клинические исследования, включающие 107 пациентов, демонстрировали эффективность Phagobioderm™ по сравнению с традиционной терапией. Раны/язвы полностью зажили у 67 (70%) из 96 пациентов, для которых были доступны данные наблюдения. Отмечалось, что гнойный дренаж прекратился в течение 2–7 дней. Клиническое улучшение было связано с быстрой (7 дней) элиминацией этиологического агента — штамма *S. aureus* [31].

Опыт создания биодеградируемых пленок с бактериофагами имеется также у индийских и российских ученых [32, 33]. В исследовании Н.А. Ковязиной и соавт. [15] отмечено влияние состава матрицы пленки на литическую активность бактериофагов *P. aeruginosa*, *S. aureus*. Были проанализированы потенциально перспективные полимеры природного, полусинтетического и синтетического происхождения — пектин, желатин, коллаген, натрия альгинат, метилцеллюлоза, натрия карбоксиметилцеллюлоза, поливиниловый спирт. Бактериофаги *P. aeruginosa* демонстрировали стабильность в составе гелей поливинилового спирта, производных целлюлозы, коллагена и же-

латина, в то время как бактериофаги *S. aureus* — только в составе желатинового, коллагенового и метилцеллюлозного гелей. Авторами выдвинута гипотеза, что дезактивация бактериофагов *S. aureus* в составе альгинатных и пектиновых гелей, возможно, связана с сорбцией бактериофага.

Исследования международной группы из Бразилии и Португалии, опубликованные в 2020 г. [33] в продолжение многолетней работы с ионными жидкостями, затрагивают вопрос разработки альгинатного гидрогеля, включающего бактериофаг *Acinetobacter baumannii*, с использованием ионной жидкости холина олеата. Бактериофаги, выделенные из сточных вод больниц и очистных сооружений в Сорокабе (Бразилия), были стабильны в среде ионной жидкости, которая, исполняя роль растворителя и пенетратора, обеспечила высокую эффективность трансдермальной доставки.

В последние годы эндопротезирование становится важным вектором применения бактериофагов в раневой терапии [34, 35]. Обработка протезов, имплантатов, операционного поля, а также катетеров растворами и гелями бактериофагов позволяет эффективно предотвращать образование биопленок на медицинских устройствах. В статье Т. Ferru et al. [34] приведен клинический случай эффективного использования препарата с бактериофагами, полученного в госпитальных условиях на основе коммерчески доступного геля для обработки протезов Defensive Antiadhesive Coating® (DAC®, Novagenit SRL, Italy). При проведении *in vitro* оценки влияние гидрогеля DAC® на активность бактериофагов было показано, что выбранные фаги очень быстро высвобождались из гидрогеля, а затем их титры оставались стабильными в течение как минимум 6 ч.

Имеется успешный опыт разработки стабильных и эффективных составов **суппозиториев**, содержащих бактериофаги [36, 37]. В работе С.С. Бочкаревой и соавт. [36] изучалась фармакокинетика бактериофагов *P. aeruginosa*, *S. enteritidis* и *E. coli* после ректального введения лабораторным животным в составе суппозиториев. Проведенные фармакокинетические исследования показали, что независимо от размеров вирусных частиц фаги определяются в разные сроки эксперимента в крови, моче и фекалиях, что подтверждает возможность их системного действия при ректальном введении.

В работе М.Н. Ануровой и соавт. [37] описан успешный опыт получения термореверсивного вагинального геля на основе комбинации плуроника и производных целлюлозы с коктейлем бактериофагов, лизирующих патологическую микрофлору влагалища.

М. Alfadhel et al. [38] поднимается вопрос о необходимости разработки **назальных форм** препаратов бактериофагов для терапии заболеваний, вызванных метициллинрезистентным золотистым стафилококком. В работе [38] приводятся результаты получения назальных пленок на основе гидроксипропилметилцеллюлозы в комбинации с желатином и маннитолом путем лиофилизации. Несмотря на значительное падение титра бактериофагов (в 10 раз после лиофилизации до 10^8 БОЕ на одну пленку, затем еще в 100–1000 раз в течение 6–12 мес хранения при 4 °С), полученная лекарственная форма демонстрировала литическую активность, поскольку эффективная концентрация бактериофага, определенная в предварительных испытаниях, равнялась 6×10^5 БОЕ на дозу.

Современная офтальмология также открыта для внедрения фаготерапии. По результатам исследо-

ваний [39, 40], использование бактериофагов целесообразно в терапии кератита и эндофтальмита, вызываемых антибиотикорезистентными бактериями *Enterococcus* spp. и *S. aureus*.

В статье А. Fadlallah et al. [39] описан клинический случай, в ходе которого пациентка, на протяжении 11 лет страдавшая рецидивирующим бактериальным кератитом, вызванным метициллинрезистентным золотистым стафилококком, прошла 4-недельный курс фаготерапии в Фаговом терапевтическом центре (Тбилиси, Грузия) с использованием бактериофага *S. aureus* SATA-8505 (АТСС РТА-9476). Фаготерапия включала местное (глазные капли и назальный спрей) и общее (интравентрикулярное введение) лечение. Спустя 6 мес у пациентки наблюдались отрицательные тесты на глазную и назальную культуру *S. aureus*.

Известны технологии включения бактериофагов в современные системы доставки — липосомы, наноэмульсии и наносферы [41–43]. Их использование, по мнению авторов, позволит увеличить биодоступность и улучшить фармакокинетику бактериофагов [41], а также обеспечит более высокую стабильность титра в лекарственной форме [42, 43].

Перспективы применения бактериофагов в медицинских целях не ограничиваются использованием вирусов и бактерий в качестве активной фармацевтической субстанции. Параллельно с фармацевтической разработкой и исследованиями *in vivo* препаратов активно ведется изучение возможностей модификации бактериофагов с помощью химической и генной инженерии с целью применения их для создания наносистем **таргетной доставки** других лекарственных веществ.

Бактериофаги являются перспективным объектом для использования в качестве систем доставки, поскольку они биосовместимы, биоразлагаемы и неинфекционны для млекопитающих и человека. Их белковые структуры поддаются модификации с помощью химической и генной инженерии. Основными реализуемыми направлениями разработок с использованием бактериофагов в качестве наносистем доставки являются химиотерапия, фотодинамическая терапия, генная терапия, лечение болезни Паркинсона, офтальмология, иммунотерапия и таргетная вакцинация [41–43].

Для применения в наномедицине лекарственное вещество либо помещается во внутреннюю полость капсида бактериофага, либо сопрягается с внутренней или наружной поверхностями капсида. Таргетная доставка достигается за счет сочетания формы носителя и химического состава поверхности капсида. Размер и форма носителя определяют пассивное сродство к той или иной ткани с учетом физиопатологических особенностей. Кроме того, активное таргетирование достигается с использованием встречающихся в природе взаимодействий вирусных наночастиц с клеткой или тканью, а также может быть достигнуто путем включения антител, аптамеров или пептидов в капсидный каркас [42].

В последние годы исследования бактериофагов и использование технологии фагового дисплея существенно расширили возможности наномедицины [41, 43]. Отображая антитела, пептиды или белки на поверхности различных бактериофагов с использованием этого феномена, стало возможным распознать специфические молекулярные детерминанты как раковых клеток, так и молекул микроокружения, ассоциированных с опухолью.

Проблемы создания лекарственных препаратов бактериофагов

Проблемы фармацевтической разработки препаратов бактериофагов были наглядно продемонстрированы в опубликованных результатах завершеного в 2017 г. проекта PhagoBurn [5]. PhagoBurn представлял собой препарат для применения в терапии ожоговых ран, осложненных *Pseudomonas aeruginosa*, для которого впервые в мировой практике проводилось многоцентровое рандомизированное одиночное слепое контролируемое клиническое исследование. Базами исследования были крупнейшие клинические ожоговые центры Франции, Швейцарии и Бельгии. Исследование было завершено на несколько месяцев раньше намеченного срока из-за показанной неэффективности исследуемого препарата PhagoBurn, представляющего собой коктейль из 12 природных литических бактериофагов *Pseudomonas aeruginosa* (pp1131; 1×10^6 БОЕ/мл), в сравнении с прописанной стандартом лечения противоожоговой терапией (обработкой раневой поверхности 1%-м кремом-эмульсией сульфадиазинового серебра). В группе пациентов, получавших лечение препаратом бактериофагов, отмечалось меньше побочных реакций (23 против 54%), однако препарат снижал бактериальную нагрузку в ожоговых ранах медленнее, чем стандартная помощь. Дополнительно проведенное исследование показало, что бактерии, выделенные у пациентов, получающих противоожоговую терапию с использованием PhagoBurn, были устойчивы к низким дозам фагов.

При проведении анализа полученных результатов после окончания проекта PhagoBurn было отмечено, что титр бактериофага pp1131 снизился после изготовления лекарственной формы до 1×10^2 БОЕ/мл в суточной дозе, из-за чего терапия с применением PhagoBurn показала неэффективность у 50% пациентов. Таким образом, исследование не продемонстрировало желаемых результатов не из-за неэффективности фаготерапии как таковой, а вследствие недостаточной стабильности титра коктейля бактериофагов в лекарственном препарате [6].

Результаты этого исследования актуализируют вопросы стандартизации препаратов бактериофагов, тщательного обоснования вида лекарственной формы и детального изучения возможного влияния условий технологической переработки бактериофагов в процессе ее получения, что связано с их лабильностью.

Таким образом, по результатам накопленного опыта в настоящее время известно, что стабильность титра различных бактериофагов в присутствии одних и тех же эксципиентов, как было показано во многих исследованиях [12–16, 33–35], часто различается — и это может быть связано с различными факторами: технологией получения и очистки бактериофагов, чистотой и дисперсностью полимеров-эксципиентов, физико-химическими характеристиками растворов полимеров (вязкостью, рН, осмотичностью, адсорбционной активностью), величиной фаговых частиц, устройством аппликаторов и средств дозирования лекарственной формы. На стабильность титра бактериофагов, в отличие от других иммунобиологических субстанций, в большей степени оказывают влияние физико-химические характеристики лекарственной формы и технологические условия ее получения, а также свойства первичной упаковки [12, 13].

В ходе исследований R&D необходимо опираться на общепринятые международные принципы фармацевтической разработки, изложенные в методических доку-

ментах Quality by Design (QbD; качество путем разработки), ICH Q8 Pharmaceutical Development (Part I, Part II) «Фармацевтическая разработка» и др., recommending использование системного подхода, основанного на надежных научных данных. Лабильность бактериофагов обосновывает необходимость многостадийных исследований литической активности конкретных бактериофагов в составе новых лекарственных форм и невозможность полной унификации подходов к разработке лекарственных препаратов. Для обеспечения стабильности титра фагов целесообразно тщательно обосновывать характеристики, путь введения, состав лекарственной формы и экспериментально определять пространство технологических параметров ее получения.

Значимой проблемой, ограничивающей разработку новых препаратов бактериофагов, является отсутствие соответствующей нормативно-правовой базы в Европе и США. Несмотря на то что бактериофаги рассматриваются EMA (European Medicines Agency) как биологические агенты (наряду с вакцинами), до настоящего времени в зарубежных фармакопеях нет монографии или других нормативных документов, регулирующих получение, стандартизацию бактериофагов, а также производство препаратов на их основе и их клинические исследования. В США Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA) с 2017 г. обсуждаются содержание и порядок принятия документа, регламентирующего производство и клинические исследования бактериофагов, однако до настоящего момента также нет действующих руководств, описывающих эти процессы.

В Российской Федерации, как и в некоторых других странах Восточной Европы, проблема нормативно-правового регулирования производства и применения препаратов бактериофагов решается путем принятия и внедрения в производственную и клиническую практику методических указаний и клинических рекомендаций. Так, в 2014 г. были выпущены федеральные клинические рекомендации «Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике», содержащие принципы рационального применения бактериофагов для лечения и профилактики инфекционных заболеваний, а также рекомендуемые для применения в микробиологических лабораториях описания методов определения чувствительности микроорганизмов к бактериофагам, спектра литической активности бактериофагов, количества (титра) бактериофагов.

В основной стандарт качества лекарственных средств Российской Федерации — Государственную фармакопею XIV издания в 2018 г. впервые введена общая фармакопейная статья ОФС.1.7.1.0002.15 «Бактериофаги лечебно-профилактические» и актуализированы фармакопейные статьи, нормирующие показатели, методики и качество основных производимых российской промышленностью бактериофагов и их коктейлей.

Общая фармакопейная статья приводит целевую направленность применения известных бактериофагов в терапии, классификацию, методы получения, выделения, очистки и анализа фагов. Для стандартизации фаголизата фармакопейными требованиями нормируются следующие показатели: содержание фаговых частиц, определенное по методу Грация (с описанием методики), специфическая активность и стабильность лизиса, определенные по методу Аппельмана (с описанием методики), рН, стерильность, аномальная токсичность. Также ОФС.1.7.1.0002.15 «Бактериофаги лечебно-профи-

лактические» содержит общие указания к стандартизации некоторых лекарственных форм бактериофагов, присутствующих на российском фармацевтическом рынке, — таблеток (средняя масса, время распадаемости, потеря в массе при высушивании, микробиологическая чистота) и растворов (рН, извлекаемый объем, стерильность).

Таким образом, в Российской Федерации в настоящее время активно создаются и утверждаются нормативно-правовые основы для расширения ассортимента лекарственных форм бактериофагов и внедрения их в клиническую практику. Однако, к сожалению, до настоящего момента не опубликовано данных о проведении доклинических и клинических исследований биопрепаратов бактериофагов согласно современным рекомендациям.

Накопленный за последние десятилетия мировой опыт как в R&D, так и в клинических исследованиях лекарственных форм бактериофагов позволяет говорить о том, что расширение ассортимента лекарственных форм и путей введения бактериофагов, а также создание препаратов, обеспечивающих стабильный фармакологический эффект не только *ex tempore*, но и в промышленных масштабах, — реализуемая задача.

Заключение

В реалиях прогрессирующей антибиотикорезистентности фаготерапия — получившая общемировое признание альтернатива антибиотикотерапии или дополнение к ней, а в последние годы рассматривается как перспектива осуществления персонализированной терапии. Однако для расширения применения препаратов бактериофагов предстоит решить ряд проблем, одна из которых связана с созданием и расширением имею-

щейся нормативно-правовой базы по вопросам хранения, стандартизации, применения и исследований этих лекарственных средств

Накопленные к настоящему времени знания о свойствах бактериофагов свидетельствуют об их эффективности при различных путях введения в организм: внутрь, наружно, ингаляционно, ректально и др. Это позволяет существенно расширить ассортимент лекарственных форм, что делает фаготерапию более лабильной и эффективной. Разработка эффективных препаратов бактериофагов в различных лекарственных формах со стабильным титром может быть обеспечена использованием современных технологий и вспомогательных ингредиентов.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Поисково-аналитическая работа проведена за счет бюджетных средств организаций.

Конфликт интересов. Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Участие авторов. Е.О. Бахрушина — поисково-аналитическая работа, написание статьи; М.Н. Анурова — поисково-аналитическая работа, написание статьи; А.В. Алешкин — редактирование, рецензирование, одобрение направления рукописи на публикацию; Н.Б. Демина — редактирование, рецензирование, одобрение направления рукописи на публикацию; И.И. Краснюк — одобрение направления рукописи на публикацию; Н.В. Пятигорская — редактирование, рецензирование, одобрение направления рукописи на публикацию; В.В. Береговых — одобрение направления рукописи на публикацию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Делягин В.М. Бактериофаготерапия на современном этапе // *РМЖ*. — 2015. — Т. 23. — № 3. — С. 132–136. [Delyagin VM. Bakteriofagoterapiya na sovremennom etape. *RMJ*. 2015;23(3):132–136. (In Russ.)]
2. *Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике: федеральные клинические рекомендации*. — М.; 2014. — 40 с. [Ratsional'noe primeneniye bakteriofagov v lechebnoy i protivoepidemicheskoy praktike: Federal clinical guidelines. Moscow; 2014. 39 p.]
3. *Фаги атакуют. Отечественная история производства и применения бактериофагов*. [Fagi atakuyut. Otechestvennaya istoriya proizvodstva i primeneniya bakteriofagov. (In Russ.)] Available from: <https://yandex.ru/turbo?text=https%3A%2F%2Fscfh.ru%2Fpapers%2Ffagi-atakuyut%2F> (accessed: 02.05.2020).
4. 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. — Т. 3. — № 2. — С. 66–74. [Aleshkin AV, Sel'kova EP, Ershova ON, et al. Concept of personalized phage therapy for intensive care unit patients with healthcare-associated infections. *Fundamental and Clinical Medicine*. 2018;3(2):66–74. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2018-3-2-66-74>
5. 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*. 2019;19(1):35–45. doi: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30482-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30482-1)
6. Huang G, Wei Z, Wang D. What do we learn from the “PhagoBurn” project. *Burns*. 2019;45(1):260. doi: <https://doi.org/10.1016/j.burns.2018.11.008>
7. Cui Z, Guo X, Feng T, Li L. Exploring the whole standard operating procedure for phage therapy in clinical practice. *J Transl Med*. 2019;17(1):373. doi: <https://doi.org/10.1186/s12967-019-2120-z>
8. Pirnay JP, Verbeken G, Ceysens PJ, et al. The Magistral Phage. *Viruses*. 2018;10(2):E64. doi: <https://doi.org/10.3390/v10020064>
9. Rubalskii E, Aleshkin A, Kühn C, et al. Three cases of ultima ratio bacteriophage therapy in the clinic for cardiothoracic, transplantation and vascular surgery. *1st German Phage Symposium (Stuttgart, Germany, October, 9–11, 2017): Program and Abstract Book*. Stuttgart; 2017. P. 92.
10. Gangwar M, Rastogi S, Singh D, et al. Study on the Effect of Oral Administration of Bacteriophages in Charles Foster Rats With Special Reference to Immunological and Adverse Effects. *Front Pharmacol*. 2021;12:615445. doi: <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.615445>
11. Ковязина Н.А. *Разработка и стандартизация таблеток Секстафаг®*: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. — Пермь; 2009. — 25 с. [Kovyazina NA. *Razrabotka i standartizatsiya tabletok Sextapag®*. [abstract of dissertation]. Perm'; 2009. 25 p. (In Russ.)]
12. Vinner GK, Richards K, Leppanen M, et al. Microencapsulation of Enteric Bacteriophages in a pH-Responsive Solid Oral Dosage Formulation Using a Scalable Membrane Emulsification Process. *Pharmaceutics*. 2019;11(9):475. doi: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11090475>

13. Vinner GK, Rezaie-Yazdi Z, Leppanen M, et al. Microencapsulation of *Salmonella*-Specific Bacteriophage Felix O1 Using Spray-Drying in a pH-Responsive Formulation and Direct Compression Tableting of Powders into a Solid Oral Dosage Form. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2019;12(1):43. doi: <https://doi.org/10.3390/ph12010043>
14. Vinner GK, Malik DJ. High precision microfluidic microencapsulation of bacteriophages for enteric delivery. *Res Microbiol*. 2018;169(9):522–530. doi: <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2018.05.011>
15. Ковязина Н.А., Функнер Е.В., Николаева А.М., и др. Технологические аспекты разработки капсул с бактериофагами // *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. — 2015. — № 1. — С. 132–136. [Kovyazina NA, Funkner EV, Nikolaeva AM, et al. Technological aspects of development capsule with bacteriophages. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2015;(1):132–136. (In Russ.)]
16. Shi Z, Li SK, Charoenputtakun P, et al. RNA nanoparticle distribution and clearance in the eye after subconjunctival injection with and without thermosensitive hydrogels. *J Control Release*. 2018;270:14–22. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.11.028>
17. Richards K, Malik DJ. Microencapsulation of Bacteriophages Using Membrane Emulsification in Different pH-Triggered Controlled Release Formulations for Oral Administration. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021;14(5):424. doi: <https://doi.org/10.3390/ph14050424>
18. Hsu BB, Plant IN, Lyon L, et al. In situ reprogramming of gut bacteria by oral delivery *Nat Commun*. 2020;11:5030. doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18614-2>
19. Cuomo P, Papaiani M, Fulgione A, et al. An Innovative Approach to Control *H. pylori*-Induced Persistent Inflammation and Colonization. *Microorganisms*. 2020;8(8):1214. doi: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8081214>
20. Morello E, Sausseureau E, Maura D, et al. Pulmonary Bacteriophage Therapy on *Pseudomonas aeruginosa* Cystic Fibrosis Strains: First Steps Towards Treatment and Prevention. *PLoS One*. 2011;(2):e16963. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016963>
21. Chang RYK, Wallin M, Kutter E, et al. Storage stability of inhalable phage powders containing lactose at ambient conditions. *Int J Pharm*. 2019;560:11–18. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.01.050>
22. Chang RY, Wong J, Mathai A, et al. Production of highly stable spray dried phage formulations for treatment of *Pseudomonas aeruginosa* lung infection. *Eur J Pharm Biopharm*. 2017;121:1–13. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2017.09.002>
23. Golshahi L, Seed KD, Dennis JJ, Finlay WH. Toward modern inhalational bacteriophage therapy: nebulization of bacteriophages of *Burkholderia cepacia* complex. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv*. 2008;21(4):351–360. doi: <https://doi.org/10.1089/jamp.2008.0701>
24. Prazak J, Valente L, Iten M, et al. Nebulized Bacteriophages for Prophylaxis of Experimental Ventilator-Associated Pneumonia Due to Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Crit Care Med*. 2020;48(7):1042–1046. doi: <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000004352>
25. Semler DD, Goudie AD, Finlay WH, Dennis JJ. Aerosol phage therapy efficacy in *Burkholderia cepacia* complex respiratory infections. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(7):4005–4013. doi: <https://doi.org/10.1128/AAC.02388-13>
26. Leung SSY, Carrigy NB, Vehring R, et al. Jet nebulization of bacteriophages with different tail morphologies — Structural effects. *Int J Pharm*. 2019;554:322–326. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.11.026>
27. Astudillo A, Leung SSY, Kutter E, et al. Nebulization effects on structural stability of bacteriophage PEV 44. *Eur J Pharm Biopharm*. 2018;125:124–130. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2018.01.010>
28. Cheng M, Zhang L, Zhang H, et al. An Ointment Consisting of the Phage Lysin LysGH15 and Apigenin for Decolonization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* from Skin Wounds. *Viruses*. 2018;10(5):244. doi: <https://doi.org/10.3390/v10050244>
29. Brown TL, Thomas T, Odgers J, et al. Bacteriophage formulated into a range of semisolid and solid dosage forms maintain lytic capacity against isolated cutaneous and opportunistic oral bacteria. *J Pharm Pharmacol*. 2017;69(3):244–253. doi: <https://doi.org/10.1111/jphp.12673>
30. Esteban PP, Alves DR, Enright MC, et al. Enhancement of the antimicrobial properties of bacteriophage-K via stabilization using oil-in-water nano-emulsions. *Biotechnol Prog*. 2014;30(4):932–944. doi: <https://doi.org/10.1002/btpr.1898>
31. Kaur P, Gondil VS, Chhibber S. A novel wound dressing consisting of PVA-SA hybrid hydrogel membrane for topical delivery of bacteriophages and antibiotics. *Int J Pharm*. 2019;572:118779. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118779>
32. Jikia D, Chkhaidze N, Imedashvili E, et al. The use of a novel biodegradable preparation capable of the sustained release of bacteriophages and ciprofloxacin, in the complex treatment of multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*-infected local radiation injuries caused by exposure to Sr90. *Clin Exp Dermatol*. 2005;30(1):23–26. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2230.2004.01600.x>
33. Campos WF, Silva EC, Oliveira TJ, et al. Transdermal permeation of bacteriophage particles by choline oleate: potential for treatment of soft-tissue infections. *Future Microbiol*. 2020;15:881–896. doi: <https://doi.org/10.2217/fmb-2019-0290>
34. Ferry T, Batailler C, Petitjean C, et al. The Potential Innovative Use of Bacteriophages Within the DAC® Hydrogel to Treat Patients With Knee Megaprosthesis Infection Requiring “Debridement Antibiotics and Implant Retention” and Soft Tissue Coverage as Salvage Therapy. *Front Med (Lausanne)*. 2020;7:342. doi: <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.00342>
35. Brown TL, Petrovski S, Hoyle D, et al. Characterization and formulation into solid dosage forms of a novel bacteriophage lytic against *Klebsiella oxytoca*. *PLoS One*. 2017;12(8):e0183510. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183510>
36. Бочкарева С.С., Караулов А.В., Аleshkin А.В., и др. Изучение фармакокинетики суппозиторных форм препаратов бактериофагов // *Бюллетень экспериментальной медицины и биологии*. — 2019. — Т. 168. — № 12. — С. 707–711. [Bochkareva SS, Karaulov AV, Aleshkin AV, et al. The pharmacokinetics of the suppository formulations of bacteriophages. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2019;168(12):707–711. (In Russ.)]
37. Анурова М.Н., Бахрушина Е.О., Демина Н.Б., и др. Разработка термореверсивного вагинального геля с бактериофагами // *Биофармацевтический журнал*. — 2019. — Т. 11. — № 2. — С. 30–33. [Anurova MN, Bakhrushina EO, Demina NB, et al. The development of thermoreversible vaginal gel with bacteriophages. *Russian Journal of Biopharmaceuticals*. 2019;11(2):30–33. (In Russ.)]
38. Alfadhel M, Puapermpoonsiri U, Ford SJ, et al. Lyophilized inserts for nasal administration harboring bacteriophage selective for *Staphylococcus aureus*: in vitro evaluation. *Int J Pharm*. 2011;416(1):280–287. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.07.006>
39. Fadlallah A, Chelala E, Legeais JM. Corneal Infection Therapy with Topical Bacteriophage Administration. *Open Ophthalmol J*. 2015;9:167–168. doi: <https://doi.org/10.2174/1874364101509010167>
40. Kishimoto T, Ishida W, Fukuda K, et al. Therapeutic Effects of Intravitreally Administered Bacteriophage in a Mouse Model of Endophthalmitis Caused by Vancomycin-Sensitive or -Resistant *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019;63(11):e01088-19. doi: <https://doi.org/10.1128/AAC.01088-19>
41. Leung SSY, Parumasivam T, Gao FG, et al. Effects of storage conditions on the stability of spray dried, inhalable bacteriophage powders. *Int J Pharm*. 2017;521(1–2):141–149. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.01.060>
42. El Haddad L, Lemay MJ, Khalil GE, et al. Microencapsulation of a *Staphylococcus* phage for concentration and long-term storage. *Food Microbiol*. 2018;76:304–309. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.06.002>

43. Barros JAR, Melo LDR, Silva RARD, et al. Encapsulated bacteriophages in alginate-nanohydroxyapatite hydrogel as a novel delivery system to prevent orthopedic implant-associated infections. *Nanomedicine*. 2020;24:102145. doi: <https://doi.org/10.1016/j.nano.2019.102145>

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Бахрушина Елена Олеговна, к.ф.н. [*Elena O. Bakhrushina*, PhD in Pharmaceutical Sciences]; **адрес:** 119019, Москва, Никитский бульвар, 13/1 [**address:**13/1, Nikitsky blvd, 119019, Moscow, Russia]; **e-mail:** bachrauschenh@mail.ru, **SPIN-код:** 9537-1297, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-8695-0346>

Анурова Мария Николаевна, к.ф.н. [*Maria N. Anurova*, PhD in Pharmaceutical Sciences]; **e-mail:** amn25@yandex.ru, **SPIN-код:** 9709-7507, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-7649-9616>

Алешкин Андрей Владимирович, д.б.н., профессор [*Andrey V. Aleshkin*, PhD in Biology, Professor]; **e-mail:** andreialeshkin@googlemail.com, **SPIN-код:** 2224-7471, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-0532-1378>

Демина Наталья Борисовна, д.ф.н., профессор [*Natalia B. Demina*, PhD in Pharmaceutical Sciences, Professor]; **e-mail:** nbd217@mail.ru, **SPIN-код:** 2605-9921, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-4307-8791>

Краснюк Иван Иванович, д.ф.н., профессор [*Ivan I. Krasnyuk*, PhD in Pharmaceutical Sciences, Professor]; **e-mail:** krasnyuki@mail.ru, **SPIN-код:** 2605-9921, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-7242-2988>

Пятигорская Наталья Валерьевна, д.ф.н., профессор, эксперт РАН [*Nathalia V. Pyatigorskaya*, PhD in Pharmaceutical Sciences, Professor, RAS expert]; **e-mail:** osipova-mma@list.ru, **SPIN-код:** 8128-1725, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-4901-4625>

Береговых Валерий Васильевич, д.т.н., профессор, академик РАН [*Valery V. Beregovykh*, PhD in Technical Sciences, Professor, Academician of the RAS]; **e-mail:** beregovykh@ramn.ru, **SPIN-код:** 5940-7554, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-0210-4570>