



Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России

Учредитель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

Издатель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии
www.iactmac.ru

Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати 30.09.1999 г. (№019273) Тираж 3000 экз.

Подписка на сайте издателя
<https://service.iactmac.ru>

Адрес для корреспонденции
214019, г. Смоленск, а/я 5.
Тел./факс: [4812]45 06 02

Электронная почта:
cmac@antibiotic.ru

Электронная версия журнала:
www.cmac-journal.ru

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук

Присланные в редакцию статьи проходят рецензирование

Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов публикуемых материалов

Ответственность за достоверность рекламных публикаций несут рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал обязательна

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2021.

Содержание

Болезни и возбудители

- 5 Синопальников А.И.
Пандемия COVID-19 – «пандемия» антибактериальной терапии
- 17 Руднов В.А., Багин В.А., Бельский Д.В., Астафьева М.Н., Невская Н.Н., Колотова Г.Б., Розанова С.М., Быкова Т.И.
Современный портрет вентилятор-ассоциированной инфекции нижних дыхательных путей: этиология и проблемы диагностики
- 27 Рузанов Д.Ю., Скрыгина Е.М., Буйневич И.В., Гопоняко С.В., Баласанянц Г.С., Химова Е.С.
Новые схемы и новые препараты в лечении туберкулеза: шагаем в ногу?

Антимикробные препараты

- 44 Палагин И.С., Перепанова Т.С., Пушкарь Д.Ю., Козлов Р.С.
Война и мир: непростое лечение инфекций мочевых путей и фосфомицина трометамол
- 55 Перепанова Т.С., Казаченко А.В., Хазан П.Л., Малова Ю.А.
Терапевтическое применение бактериофагов: назад в будущее

Рекомендации

- 66 Жестков А.В., Лямин А.В., Исмагуллин Д.Д., Мартинович А.А., Хайкина Е.В.
Обзор международных клинических рекомендаций по терапии инфекций легких, вызванных нетуберкулезными микобактериями

Опыт работы

- 92 Иванчик Н.В., Сухорукова М.В., Чагарян А.Н., Трушин И.В., Дехнич А.В., Козлов Р.С.
In vitro активность тиамфеникола в отношении клинических изолятов *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* и *Streptococcus pyogenes*
- 100 Ярец Ю.И., Шевченко Н.И., Еремин В.Ф., Ковалев В.О.
Локальный микробиологический мониторинг как основа определения этиологической значимости условных патогенов: результаты анализа данных на примере отделения ожоговой реанимации

Терапевтическое применение бактериофагов: назад в будущее

Перепанова Т.С., Казаченко А.В., Хазан П.Л., Малова Ю.А.

НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва, Россия

Контактный адрес:

Тамара Сергеевна Перепанова
Эл. почта: perepanova2003@mail.ru

Ключевые слова: бактериофаги, фаги, инфекции, терапия.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

В статье представлен обзор литературы по проблеме бактериофаготерапии инфекционно-воспалительных заболеваний, в том числе и урологической инфекции. Даны современные представления о бактериофагах и механизме их действия, об отличии вирулентных и умеренных фагов, обсуждаются механизмы устойчивости бактерий к фагам и пути их преодоления. В обзоре также представлена история фаготерапии инфекционных заболеваний с начала XX в. и до наших дней, приведены исследования по изучению кинетики фагов в организме после одноразового перорального применения. Кроме того, автор приводит собственные данные по 30-летнему клиническому применению препаратов бактериофагов при лечении и профилактике урологической инфекции. Также обсуждаются проблемы фаготерапии, включая иммунологические, и преимущества применения бактериофагов перед антибактериальной терапией.

Review

Bacteriophage therapy: back to the future

Perepanova T.S., Kazachenko A.V., Khazan P.L., Malova Yu.A.

Institute of Urology and Interventional Radiology named after N.A. Lopatkin, Moscow, Russia

Contacts:

Tamara S. Perepanova
E-mail: perepanova2003@mail.ru

Key words: bacteriophages, phages, infections, therapy.

Conflicts of interest: all authors report no conflicts of interest relevant to this article.

In connection with growing problem of antimicrobial resistance, the search for alternative treatments for infection is popular topic nowadays. This article represents an overview of published data on the therapeutic use of bacteriophages, specifically in urinary tract infections. The history of phage therapy of infectious diseases from the beginning of the 20th century to the present days is presented. The paper also discuss the mechanism of bacteriophages activity, differences between lytic and lysogenic phages, mechanisms of bacterial tolerance to phages and ways of its overcoming are. Authors present their own data on 30 years of clinical use of "bacteriophage cocktails" in the treatment and prevention of urological infection.

Введение

Широкое и бесконтрольное применение антибактериальных препаратов (АБП) не только в медицине, но и в сельском хозяйстве, животноводстве, пищевой промышленности привело к распространению мультирезистентных штаммов, устойчивых к наиболее распространенным АБП. Это представляет серьезную угрозу для современного лечения инфекционно-воспалительных заболеваний вообще и урологической инфекции в частности.

Предупреждения о возвращении к «эпохе до антибиотиков» становятся все более распространенными, и такие организации, как Всемирная организация здравоохранения, Организация объединенных наций, Центры по контролю и профилактике заболеваний США (CDC), объявили устойчивость к АБП угрозой для глобального здоровья [1, 2].

Ограниченный арсенал эффективных АБП, снижение колонизационной резистентности кишечника при мас-

сивной антибактериальной терапии (АБТ), рост числа нежелательных побочных реакций АБП вынуждают искать альтернативные способы лечения инфекционно-воспалительных заболеваний.

Преобладание роли условно-патогенных бактерий в развитии урологической инфекции создает проблемы в подборе лечебных препаратов, особенно у пациентов с рецидивирующими инфекционными заболеваниями почек, мочевого пузыря и мочевыводящих путей.

В поисках альтернативных стратегий профилактики и контроля бактериальной инфекции все чаще обращают внимание на бактериофаговую (фаговую) терапию. Сторонники такой терапии выделяют несколько основных преимуществ, которые имеют фаги по сравнению с АБП: специфичность, саморазмножение, способность к разрушению микробных биопленок и низкая токсичность для человека [3, 4].

К истории вопроса о бактериофагах

Почти за десятилетие до открытия пенициллина в качестве средства против патогенов, таких как *Shigella dysenteriae*, еще в 1919 г. использовались бактериофаги [5]. Фаги (сокращенно от бактериофагов) являются бактериоспецифичными вирусами. Природа их существования была темой дискуссий до тех пор, пока они не были визуализированы в 1940-х гг. после изобретения электронной микроскопии [6]. Споры вокруг эффективности фаговой терапии велись из-за плохой документированности данных об ее применении, а также из-за достижения разных результатов. Осложнения при осуществлении терапии были связаны с тем, что на момент открытия фагов известно о них было мало, впрочем, как и о патогенезе инфекционных заболеваний.

Современные представления о бактериофагах и механизме их действия

Бактериофаги – это вирусы, паразитирующие на бактериях. Каждая фаговая частица содержит геном, представленный молекулой ДНК или РНК, заключенный в белковую или липопротеиновую оболочку (капсид). Они встречаются повсеместно: в сточных водах, почве, глубоких термальных источниках, природных водоемах, морях и океанах. [7]

Фаги не способны воспроизводиться независимо, их выживание зависит от бактериального хозяина. Бактериофаги можно разделить на две группы по типу жизненного цикла: вирулентные и умеренные. Они обычно связываются со специфическими рецепторами на поверхности бактериальных клеток, вводят свой генетический материал в клетку-хозяина и затем или интегрируют этот материал в бактериальный геном («умеренные» фаги), или захватывают механизм бактериальной репликации для получения следующего поколения фагового потомства, что в результате приводит к гибели бактериальной клетки («литические» фаги). После биосинтеза компонентов и их самосборки в бактериальной клетке накапливается от нескольких до более чем 1 тыс. вирусных частиц. Под действием фаговых лизингов и внутриклеточного осмотического давления происходит гидролиз клеточной стенки бактерии и высвобождение новых фагов для дальнейшего инфицирования новых бактерий и инициирования литического цикла [8, 9]. Один литический цикл (от момента адсорбции фагов до их выхода из клетки) продолжается 30–40 мин. Процесс бактериофагии проходит несколько циклов, пока не будут лизированы все чувствительные к данному фагу бактерии.

Умеренные фаги лизируют не все клетки в популяции, с частью из них они вступают в своего рода симбиоз, встраиваясь в хромосому бактерии. Такой профаг, ставший частью хромосомы клетки, при ее размножении реплицируется синхронно с геномом бактерии, не вызывая ее лизиса, и передается по наследству от клетки к клетке неограниченному числу потомков. Биологическое явление симбиоза микробной клетки

с умеренным фагом называется лизогенией [10, 11]. Умеренные фаги, захватывая фрагменты ДНК от одного хозяина и перенося другому, могут быстро распространять генетический материал между бактериями-хозяевами, обеспечивая бактериальное разнообразие. Действуя как «мобильный банк генов», фаги помогают хозяевам быстро приспосабливаться к изменениям питания, высоким температурам, воздействиям химических веществ. Эти гены могут быть полезными для бактериального хозяина и могут кодировать факторы вирулентности (например, дифтерийный токсин, токсин шига и ботулинический токсин), метаболические гены и гены устойчивости к АБП [12–14].

Большинство фагов высокоспецифичны и могут инфицировать только те бактерии, которые несут комплементарный рецептор, что в свою очередь определяет диапазон литического фага [15].

Препараты бактериофагов получают в результате селекции высоковирулентных фагов, обладающих выраженной антибактериальной активностью. Препараты не содержат умеренных фагов, обладающих способностью к трансдукции или лизогенной конверсии [16]. При культивировании фагов на бактериальных клетках штаммов-продуцентов в процессе нескольких циклов внутриклеточного размножения происходит накопление биомассы бактериофагов, которую затем очищают, последовательно удаляя лизированные бактериальные клетки, бактериальные антигены и токсины. При этом, по заявлению производителей, достигается степень очистки порядка 98–99% [17, 18].

Для лечения литические фаги объединяют в препараты, представляющие собой так называемые «фаговые коктейли», которые состоят из нескольких фагов, доказавших свою эффективность *in vitro* против патогенамишени.

Механизмы устойчивости бактерий к фагам

Бактерии разработали многочисленные механизмы сопротивления инфекции литическим фагам, и фаги имеют не менее впечатляющее разнообразие механизмов для преодоления этой устойчивости.

Устойчивость бактерий к фагам включает в себя модификацию рецепторов фаговой поверхности на бактериальной клетке, интеграцию генома фага в геном бактерий и потерю генов, специфичных для репликации или сборки фага [19]. Механизмы резистентности к фагам могут быть классифицированы как предотвращение адсорбции фага, предотвращение проникновения фаговой ДНК, деградацию фаговых нуклеиновых кислот и прерванный инфекционный процесс [20, 21]. Самые распространенные формы фаговой устойчивости – профилактика фаговой адсорбции за счет точечных мутаций и/или изменений экспрессии генов, кодирующих рецепторы, с которыми связываются фаги [21].

Интересно, что фаговая устойчивость может быстро появиться через эти механизмы, но часто идет с потерей бактериальной вирулентности [21–23]. Молекулы бактериальной поверхности, которые являются вовлечен-

ными во взаимодействие фаг–бактерия часто состоят из поверхностных белков, поверхностных гликанов и гликоконъюгатов, таких как капсулы и липополисахариды. Изменение в этих компонентах может привести к снижению вирулентности и обновленной чувствительности к иммунитету макроорганизма [21, 22].

Помимо изменения поверхностных рецепторов, резистентность может быть также достигнута за счет выработки внеклеточного матрикса, важной составляющей бактериальной биопленки, которая обеспечивает физический барьер между фагами и их рецепторами. Некоторые фаги эволюционировали для распознавания полимеров, которые содержат внеклеточный матрикс, и разрушения их. Другие бактерии предотвращают проникновение фаговой ДНК с помощью защитных белков.

В последнее время много исследований посвящено механизмам сопротивления, которые мешают введению фаговой ДНК в бактерии. Важными механизмами сопротивления являются системы рестрикции модификации, которые разрушают фаговую ДНК, в то время как бактериальная ДНК защищена [24].

Самым важным из последних открытий явилось обнаружение системы CRISPR/Cas, которая функционирует как бактериальная приобретенная иммунная система, запоминающая вирусный генетический материал для предотвращения будущих попыток заражения [20]. Система исключения фагов (BREX) и варианты прокариот – «Argonaute» были обнаружены совсем недавно, они действуют как барьер для поглощения и репликации чужеродных ДНК [25, 26]. Последним средством механизмов бактериальной устойчивости является «абортная» инфекционная система. Эта система ведет к смерти инфицированных бактерий-хозяев, тем самым предотвращая размножение фагов и дальнейшую инфекцию для других бактерий [20].

Важное следствие непрерывной гонки вооружений между фагами и бактериями – это появление у фагов стратегий противодействия или обхода этих механизмов устойчивости [27]. Например, фаги могут изменить ход их жизненного цикла [28] и могут кодировать ингибиторы белков системы CRISPR-Cas (т.е. анти-CRISPRs) [29]. Кроме того, могут возникать мутации в белках, связывающих фаговые рецепторы, может происходить рекомбинация между разными фагами [28].

Появление фагоустойчивых штаммов является естественным последствием совместной длительной эволюции бактерий и фагов. Перед назначением фаговой терапии необходимо учитывать меры для преодоления устойчивости. Должны применяться фаговые коктейли, охватывающие широкий диапазон хозяев-бактерий и предназначенные на целевые высоко консервативные структуры, необходимые для выживания или вирулентности бактерий [23].

Важным условием, обеспечивающим эффективность лечения препаратами бактериофагов, является определение чувствительности к ним возбудителя. Диапазон действия определяется спот-тестом, активность по методу Аппельмана.

История фаготерапии

Несмотря на то что впервые характерную зону лизиса, связанную с фаговой инфекцией, описал F. Twort в 1915 г., именно F. d'Herelle определил источник этого явления, отнес его к бактериальным вирусам и ввел термин «бактериофаг» («пожиратель бактерий»). F. d'Herelle впервые успешно использовал фаги в 1919 г. в Париже для лечения четырех случаев бактериальной дизентерии у детей [5, 30]. Конечно, в те годы исследования плохо контролировали и регистрировали, поэтому возникает много вопросов об эффективности лечения, однако F. d'Herelle продолжил пионерскую фаговую терапию при лечении дизентерии, холеры и бубонной чумы с помощью ряда фаговых терапевтических центров и коммерческих фаговых производственных установок по всей Европе и Индии. Исследование 1931 г. в Индии включало когорту из 118 пациентов контрольной группы и 73 опытной группы, которым назначали фаги. F. d'Herelle отметил снижение смертности на 90% в опытной группе (5 летальных исходов) по сравнению с контрольной группой (74 смерти) [31].

Однако фаговая терапия не нашла тогда широкого распространения, так как было допущено много ошибок из-за плохого понимания биологической природы фагов. Лечебные средства готовились на основе умеренных фагов, фаготерапия инфекций, вызванных несколькими возбудителями, проводилась монопрепаратами [32]. Недостаточная очистка и неправильное хранение приводили к низким титрам активного фага, загрязнению бактериальными антигенами. При выборе бактериофага также не учитывали чувствительность к бактерии-мишени. Кроме того, была неизвестна роль врожденного иммунного ответа в удалении активного фага и снижении эффективности фаговой терапии [33].

Появление АБП в середине XX в., наряду с лучшим пониманием природы инфекционных заболеваний, произвело революцию в здравоохранении и резко улучшило как качество жизни, так и ее продолжительность в промышленно развитых странах [6]. В результате фаговая терапия не нашла широкого применения в западной медицине. Исключением стали страны бывшего Советского Союза и Восточной Европы, где она продолжала использоваться для лечения инфекционно-воспалительных заболеваний в разных разделах медицины. Более того, в Тбилиси был создан научный институт по изучению фагов, а в Уфе, Нижнем Новгороде и Перми налажен промышленный выпуск фаговых препаратов [34].

АБП начали новую эру в медицине, быстро став незаменимым медицинским инструментом. Однако применение около 100–200 тыс. тонн АБП ежегодно во всем мире (не только в медицине, но и в сельском хозяйстве и животноводстве) привело к выработке у микроорганизмов различных механизмов защиты [35, 36]. По оценкам CDC, устойчивые к АБП инфекции приводят к 2 млн заболеваний и по меньшей мере 23 тыс. смертей в год [36]. Согласно обзору правительства Соединенного Королевства за 2016 г., ежегодно в мире умирает 700 тыс. человек от инфекций, вызванных ан-

тибиотикорезистентными возбудителями, при этом к 2050 г. прогнозируется рост числа погибших до 10 млн, а расходов – до 100 трлн долларов [36]. В США только от инфекций, вызванных метициллинорезистентными стафилококками (MRSA), регистрируют больше смертей, чем от ВИЧ/СПИД и туберкулеза вместе [37]. Начиная с 2000 г., из-за отсутствия вариантов лечения во всем мире стала увеличиваться заболеваемость госпитальными инфекциями, вызванными энтеробактериями, устойчивыми к карбапенемам [38].

Из-за скорости, с которой бактерии развивают устойчивость к АБП, резко снизился коммерческий интерес фармкомпаний к исследованиям и разработке новых соединений. В 1983–1987 гг. появилось 16 новых фармацевтических АБП, одобренных Управлением по надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) для использования в США. Это количество неуклонно снижалось, и в период 2010–2016 гг. было одобрено только 6 новых АБП [39].

Благодаря разработкам молекулярно-биологических методов диагностики (секвенирование следующего поколения (NGS) и электронная микроскопия), способных изучать фаги, область фаговой биологии только сейчас достигает зрелости. Эти технологические достижения привели к возрождению исследований в области фаговой терапии, о чем свидетельствует волна недавних клинических исследований на людях и исследований на животных.

Если в 20–30-х гг. XX в. фаги применяли в основном при бактериемии, кишечных и кожных инфекциях, то в 70–90-х гг. терапия фагами стала рассматриваться как дополнительная и даже альтернативная для лечения и профилактики многих инфекционных заболеваний и осложнений у пациентов. Помимо клинического применения препаратов бактериофагов при кишечной и кожной инфекции, появились публикации о фаготерапии инфекций дыхательных путей, мочевых инфекций, инфекций кожи и мягких тканей и т.д., чему способствовали исследования кинетики фагов в организме человека.

Исследования кинетики фагов в организме человека

Исследования кинетики фагов выявили, что после однократного перорального приема 20–30 мл препарата бактериофага их определяли в крови через 1 ч. и в моче через 2 ч. Высокий уровень содержания фаговых частиц в образцах мочи, особенно в более удаленные от приема препарата сроки (3–6-е сутки), свидетельствует о поддержании их высокой концентрации за счет размножения бактериофагов на гомологичных фагочувствительных бактериях. При отсутствии гомологичного возбудителя у больных и у здоровых людей массивный выход синегнойных или коли фагов с мочой осуществлялся в течение первых 6–8 ч. после приема препарата, затем следовало постепенное снижение концентрации вплоть до полного исчезновения фагов в последующие 3–6 суток. Низкое содержание фагов в образцах свидетельствовало об отсутствии гомологичного возбу-

дителя в организме [18, 40]. Наличие фагов в крови, моче и околоплодных водах через 1 ч. после перорального приема «Секстафага» и выделение их до 15 ч. подтвердили другие исследования [41]. При однократном ректальном введении суппозитория «Секстафага» фаги выделяли с мочой через 3–5 ч., выделение наблюдали в течение 31 ч. [42] или через 2–3 ч., массивное выделение фагов с мочой отметили через 10–14 ч. и до 1–5 суток [43]. После перорального приема фаговые частицы обнаруживали через 1 ч. в крови, бронхиальном содержимом, спинномозговой жидкости, поверхности ожоговых ран и в моче. Длительность пребывания бактериофагов в организме после однократного приема составила 7 и более суток [44].

Современная бактериофаготерапия

Начиная с 70-х гг. и до 2000-х гг., публикации по фаготерапии в основном были из России, Грузии и Польши.

В хирургии у 13 больных с распространенным гнойным перитонитом при многократных санациях брюшной полости были использованы специфические фаги, чувствительные к выделенным микроорганизмам из перитонеального экссудата, в частности *P. aeruginosa*, *Enterococcus faecium*, *E. coli*, *E. bovis*. Авторы считают, что использование уже имеющихся фагов, а также создание новых адаптированных фаговых препаратов для лечения распространенного гнойного перитонита для профилактики инфицирования внутрибольничными штаммами микроорганизмов, весьма перспективно [45].

Хайруллин И.Н. и соавт. [46] изучали эффективность применения поливалентного бактериофага при профилактике раневой инфекции после плановых хирургических операций у 27 больных через 5 мин. после хирургической обработки раны. По данным авторов, сроки заживления ран сокращались в 2–2,5 раз и составляли в среднем 4–7 суток.

Отмечены положительные результаты после применения фагов у 94 больных с острыми термическими поражениями. Комбинированный бактериофаг назначали в зависимости от площади поражения либо совместно с АБП (с площадью ожога > 20%), либо только бактериофаги (< 20%), контрольная группа – стандартная местная и АБТ. На фоне бактериофаготерапии раньше купировались гнойно-септические осложнения, нормализовалась температура тела, быстрее проходило очищение ран и снижение бактериемии. Число пациентов с положительными гемокультурами сократилось с 55% до 36,8%. В группе больных, пролеченных бактериофагами, летальность составила 3,7%, в то время как в контрольной группе без использования фагов – 15,1% [44].

В 1970-х гг. оценивали терапевтическую эффективность стафилококкового фага против различных инфекционных заболеваний, в том числе септического артрита. В одном из этих исследований у 120 пациентов независимо от терапии (только АБП, фаговая монотерапия или комбинированная терапия) отмечали 100% заживление [47, 48]. Исследование трудно интерпретировать, так как монотерапия фагом проведена только

9 пациентам, а в группе комбинированной терапии антибиотикотерапия, возможно, повлияла на результаты.

В Польше Slopek S. et al. [49] предоставил обзор 550 случаев фаготерапии (1981–1986 гг.) с 90% эффективностью лечения у пациентов с «пиогенным артритом и миозитом», «остеомиелитом длинных костей» и «остеоитом длинных костей после перелома». Фаги применяли как местно, так и перорально.

В работе из Франции приводится анализ лечения 7 пациентов с инфекцией после ортопедических операций, при этом при спинальной инфекции наблюдалась эрадикация одного из возбудителей (*S. aureus*), а *P. aeruginosa* сохранялась. Авторы сообщили об одной неудаче лечения [50].

Описан случай успешного применения бактериофагов у пациентки с почечным трансплантатом с развившейся флегмоной забрюшинного пространства, в дальнейшем осложненной флегмоной бедра и абсцессом ягодицы и сепсисом. Из крови выделена полирезистентная *Klebsiella pneumoniae*, чувствительная только к цефотаксиму, интестифагу и поливалентному пиобактериофагу. После комплексной терапии, включавшей экстракорпоральные методы лечения, АБТ и фаготерапию (интестифаг), уже на 2–3-й день местного применения фага отмечена положительная динамика состояния раны: уменьшение раневого отделяемого, прекращение прогрессирования некроза, появление грануляций. Пациентка выписана с функционирующим почечным трансплантатом [51].

Одной из первых в 90-х гг. прошлого столетия препараты бактериофагов для лечения госпитальной урологической инфекции применила Перепанова Т.С. и соавт. [52]. С целью повышения фагочувствительности бактерий авторы отправляли возбудители, выделенные от урологических пациентов на фаговое производство (Уфа), где проводили подбор («адаптацию») коммерческих препаратов бактериофагов к выделенным уропатогенам, что положительно отразилось на клинических результатах. По данным авторов, удовлетворительный результат лечения отмечался уже на 2–4-й день применения бактериофагов. Авторы сравнивали результаты лечения разных групп пациентов с мочевого инфекцией: с дренажами и без дренажей; леченых только фагами и фагами вместе с АБП. Исследователи показали, что у пациентов с дренажами и катетерами снижение микробного числа в моче только фагами было достигнуто в 73–77,7% случаев, в то время как фаготерапия больных без дренажей была эффективна в 85,3%, что сопоставимо с лечением ципрофлоксацином (88%). Клинико-бактериологическая эффективность колибациллярной, протейной и стафилококковой инфекций отмечалась на уровне 86–93%. При синегнойной этиологии мочевого инфекции бактериологический эффект был достигнут в 61% случаев, энтеробактерной – в 77%.

Зоркин С.Н., Шахновский Д.С. [53] исследовали эффективность использования бактериофагов у детей с осложненной урологической инфекцией, на фоне различных аномалий развития мочевыводящих путей. Авторы

сравнивали 4 группы пациентов в зависимости от применяемой терапии: АБП или АБП с фагами в послеоперационном периоде или только при лечении урологической инфекции.

Хотя нельзя признать эту методику безопасной, авторы проводили местное орошение чашечно-лоханочной полости, полости мочевого пузыря или просвета мочеочника 5–10 мл соответствующего бактериофага с пережатием дренажа на 15–20 мин. в течение последующих 5–7 дней, после чего дренаж удаляли. Через 6–12 мес. после нормализации уродинамики отмечено, что сочетание АБП и бактериофага показало большую клинико-бактериологическую эффективность.

Интересен опыт применения адаптированных к госпитальной микрофлоре бактериофагов в отделении реанимации новорожденных в период осложнения эпидемиологической ситуации, где наряду с обычными противоэпидемическими мероприятиями были использованы и бактериофаги. В профилактических целях синегнойный фаг применяли всем новорожденным через рот, а также в увлажнительных камерах аппаратов искусственной вентиляции и путем распыления во внешней среде палаты, и достигли снижения заболеваемости внутрибольничной инфекцией синегнойной этиологии в 11 раз [54].

Одной из причин неудач применения бактериофагов может являться формирование биопленок – т.е. сообщества бактериальных клеток, заключенных в собственную биополимерную матрицу, адгезированную на поверхности субстрата [55]. До 60% рецидивирующей урологической инфекции обусловлено их формированием. Толордава Э.Р. [56] изучала влияние препаратов бактериофагов на биопленки, образованные на уретральных катетерах или в/на камнях почек *in vivo* и мочеочника (N = 203) после выполнения оперативного вмешательства, а также на биопленки *in vitro*, сформированные клиническими изолятами, выделенными из мочи и мочевого камня, и референсными штаммами *P. aeruginosa* PA103 и PAO.

Выявлено, что применение препарата бактериофага в низких титрах провоцирует формирование биопленки также, как и фаговый препарат, к которому исследуемый клинический изолят был устойчив. Целесообразно использование фагов с учетом чувствительности и высоким титром фаговых частиц в препарате (не менее 10^7 КОЕ/мл).

В последнее время с ростом антимикробной резистентности фаговая терапия завоевала интерес в Западной Европе [57–60]. И даже несмотря на то что сообщаемые случаи включают по 1 пациенту с протезной инфекцией, и успешные результаты были достигнуты при сочетанной фаговой терапии с АБП, они включали множество особенностей лечения (например, пути введения, нанесенный фаговый коктейль) [59]. Также подтвердили эффективность применения фагов при лечении отита синегнойной этиологии [61], в офтальмологии – глазные капли с фагами при абсцессе роговицы глаза и интестичиальном кератите [62]. Успешное лечение хронических дерматозов стафилококковой этиологии эндо-

лизином *Staphefekt* фага [63] и синегнойной септицемии, чувствительной только к колистину, препаратом бактериофага [64].

Золотым стандартом для клинических испытаний является рандомизированные клинические исследования (РКИ). Пока только 1 РКИ (исследование *PhagoBurn*) было опубликовано с использованием фагового коктейля в соответствии с руководящими принципами GMP («хорошая производственная практика») и GCP («хорошая клиническая практика») против инфекции ожоговых ран *E. coli*- и *P. aeruginosa*-этиологии [65]. Исследование *PhagoBurn* проводилось в центрах ожоговых ран во Франции и Бельгии. Это исследование подчеркивает важность фаговой стабильности и состава, так как после изготовления препаратов фаговые титры снизились, и пациенты в опытной группе получали препараты с более низкими титрами, чем предполагалось. И несмотря на медленный клинический эффект, в группе фаготерапии, по сравнению с группой, получавшей стандартное лечение (сульфадиазин, серебряный крем), отмечали соответствующее снижение бактериальной нагрузки и меньшее количество побочных эффектов [65].

В последнее время предпринимаются дальнейшие усилия чтобы представить клинические исследования с использованием фаговой терапии в соответствии с рекомендациями GCP при различных инфекционных состояниях (например, хронический отит, инфицированные ожоговые раны, диабетические язвы стопы, костные и суставные инфекции, хронически инфицированный мукосцидоз и т.д.) [66].

Сегодняшний наш опыт применения препарата пиобактериофага поливантного очищенного для профилактики и лечения инфекционно-воспалительных осложнений после перкутанной нефролитотрипсии [67] показал, что бактериофаги возможно могут применяться как альтернатива антибактериальной профилактике, что имеет большое значение в условиях роста антибиотикорезистентности. Предварительно был проведен подбор (адаптация) коммерческих препаратов пиобактериофага к 100 штаммам кишечной палочки, выделенным от урологических пациентов. Литическая активность пиобактериофага была повышена с 72% до 92%. Исследование проводили у 90 пациентов с большими и кораловидными камнями почек, которым выполняли периоперационную профилактику за 2 ч. до операции либо АБП, либо препаратом пиобактериофага (смесь очищенных фильтратов фаголизатов следующих бактерий: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Proteus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*). Показано, что развитие синдрома системной воспалительной реакции после операции не зависело от применяемой методики и препарата (26,6%; 20%; 20%). Ни в одном случае не наблюдали острый пиелонефрит и сепсис. Для улучшения антимикробного действия необходим постоянный мониторинг чувствительности микроорганизмов к препаратам бактериофагов и постоянный подбор (обновление) препаратов бактериофагов к возбудителям конкретного стационара или пациента.

Проблемы фаготерапии

Клинические исследования показывают эффективность применения фагов при лечении инфекционно-воспалительных заболеваний, но методология исследований между странами различается. Исследования чаще включают мономикробную инфекцию и не включают микст-инфекцию. Несмотря на то что во многих работах показана высокая эффективность лечения инфекции фагами, эти исследования не соответствуют современным требованиям доказательной медицины. В западной прессе работы в основном спорадические и включающие единичных пациентов.

Фаги по существу представляют собой белковые структуры, что подразумевает их восприимчивость ко всем изменениям окружающей среды, которые денатурируют белок, таким как изменение pH, повышение температуры, воздействие органических растворителей (например, дезинфицирующих средств) и механические стрессы [68–70].

Очищение фагов иммунной системой может влиять на эффективность терапии [21]. Поскольку фаги встречаются повсеместно и ежедневно (например, через различные продукты), низкие титры фагоспецифических антител можно часто встретить у пациентов, однако титры могут увеличиваться во время фаготерапии. Индукция врожденного иммунитета, который очищает фаги через фагоцитоз (т.е. ретикулоэндотелиальную систему), а также путем адаптивной иммунной системы за счет выработки фагонейтрализующих антител, связана с ранним истощением фагов и последующим снижением эффективности [68, 71].

Для пероральных и местных применений это кажется менее проблематичным по сравнению с системным внутривенным применением. Однако возможно, что повторное применение фагов, увеличение концентрации фагов или использование различных фагов или фагового коктейля поможет компенсировать это явление [21, 33, 68, 71]. Более того, стимуляция иммунитета фагами может даже улучшить результат лечения [72].

Алешкин А.В. и соавт. [73] исследовали антифаговый иммунитет у 42 пациентов отделения нейрореанимации, находящихся на искусственной вентиляции легких, с помощью иммуноферментного анализа до и после фаготерапии. Если при первом курсе фаготерапии санация была подтверждена в 54–62,5% случаях, то повторные курсы теми же штаммами фагов не привели к существенной эрадикации патогенов. Антифаговый иммунитет после однократного применения препаратов бактериофагов был подтвержден по наличию титра IgG-антител в диапазоне от 1/16 до 1/4096. В ходе дальнейшего исследования авторы выявили, что нейтрализующие IgG-антитела появляются через 2–3 недели после первичного курса фаготерапии и являются штамм-специфичными. Таким образом, при повторной фаготерапии авторы рекомендуют менять состав фагового коктейля для поддержания необходимого уровня спектра его литической активности за счет индивидуального подбора штаммового состава, дозирования и путей введения препарата бактериофагов.

Хотя ни о каких серьезных клинических иммунологических осложнениях фаговой терапии на сегодняшний день не сообщалось [21], может возникнуть вопрос о косвенной иммуногенности из-за лизиса клеток. Надо понимать, что и бета-лактамы АБП лизируют клеточную стенку грамотрицательных бактерий. Однако клиническая ситуация, которая требует АБТ или фаготерапии, как правило, сопровождается системной воспалительной реакцией, бактериемией, т.е. инфекциями, которые уже сами по себе опасны для жизни [74, 75]. Имунная система при взаимодействии между бактериями, фагами и человеком, да еще на фоне инфекции, представляет собой сложные взаимоотношения, которые остаются трудными для точного моделирования/прогнозирования [76].

Преимущества бактериофагов перед антибиотиками

Действительно, фаги имеют несколько важных свойств, которые способствуют их терапевтическому потенциалу. Во-первых, фаги могут самостоятельно воспроизводиться (реплицироваться). Это является активом, который способствует их эффективности и отли-

чает их от обычных противомикробных препаратов [77]. Во-вторых, некоторые фаги имеют полисахаридные деполимеразы на их хвостовых структурах, которые могут выступать в качестве адьюванта к фаговой инфекции путем разрушения внеклеточного матрикса биопленочной инфекции [78]. В-третьих, фаги считаются безопасными в отношении человеческих тканей, поэтому нормальная бактериальная флора человека не поражается, что может объяснить их высокую специфичность (они часто заражают только подмножество штаммов в пределах одного вида) и быструю инактивацию и очищение, как только их хозяин (бактерия) более не присутствует [74, 77]. Это также подразумевает, что для каждого нового бактериального штамма может потребоваться конкретный специфический фаг [78, 79]. К счастью, фаги обильно присутствуют в природе и могут быть легко выделены и полностью охарактеризованы [80]. Наконец, принцип действия фагов отличается от принципа действия АБП, поэтому их обычно не затрагивают механизмы антибиотикорезистентности бактерий [81]. Последнее, пожалуй, является основной причиной повышенного интереса к фаговой терапии в последние десятилетия.

Литература

- Centers for Disease Control. Antibiotic Resistance: The Global Threat. 2015; Accessed Mar 29, 2017. Available at: www.cdc.gov/drugresistance/pdf/antibiotic_resistant_fs.pdf.
- World Health Organization. Antibiotic resistance – a threat to global health security. 2013. Accessed Mar 29, 2017. Available at: www.who.int/drugresistance/activities/wha66_side_event/en/.
- Bourdin G., Navarro A., Sarker S.A., Pittet A.C., Qadri F., Sultana S., et al. Coverage of diarrhoea-associated *Escherichia coli* isolates from different origins with two types of phage cocktails. *Microb Biotechnol.* 2014;7:165-176. DOI: 10.1111/1751-7915.12113
- Donlan R.M. Preventing biofilms of clinically relevant organisms using bacteriophage. *Trends Microbiol.* 2009;17:66-72. DOI: 10.1016/j.tim.2008.11.002
- Chanishvili N. Phage therapy – history from Twort and d’Herelle through Soviet experience to current approaches. *Adv Virus Res.* 2012;83:3-40. DOI: 10.1016/B978-0-12-394438-2.00001-3
- Lin D.M., Koskella B., Lin H.C. Phage therapy: An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance. *World J Gastrointest Pharmacol Ther.* 2017;8(3):162-173. DOI: 10.4292/wjgpt.v8.i3.162
- Crawford D.H. *Viruses: A Very Short Introduction.* Oxford University Press; 1st edition (September 1, 2011), 156 p.
- Delbrück M. The growth of bacteriophage and lysis of the host. *J Gen Physiol.* 1940;23(5):643-660. DOI: 10.1085/jgp.23.5.643
- Weinbauer M.G. Ecology of prokaryotic viruses. *FEMS Microbiol Rev.* 2004;28:127-181. DOI: 10.1016/j.femsre.2003.08.001
- Steinier R., Edelberg E., Ingram D. *The Microbial World.* Vol. 1. Mir, M., 1979, 320 p. Russian. (Стейниер Р., Эдельберг Э., Ингрэм Д. Мир микробов, 1 том. Мир, М., 1979 г., 320 стр.)
- Cutter E., Sulakvelidze A. *Bacteriophages. Biology and practical applications.* Nauchnyj mir, 2012, 640 p. Russian. (Каттер Э., Сулаквелидзе А. Бактериофаги. Биология и практическое применение. Научный мир, 2012 г., 640 с.)
- Penadés J.R., Chen J., Quiles-Puchalt N., Carpena N., Novick R.P. Bacteriophage-mediated spread of bacterial virulence genes. *Curr Opin Microbiol.* 2015;23:171-178. DOI: 10.1016/j.mib.2014.11.019
- Modi S.R., Lee H.H., Spina C.S., Collins J.J. Antibiotic treatment expands the resistance reservoir and ecological network of the phage metagenome. *Nature.* 2013;499:219-222. DOI: 10.1038/nature12212
- Crawford D.H. *Viruses: A Very Short Introduction.* Oxford University Press; 1st edition (September 1, 2011), 150 p.
- Rakhuba D.V., Kolomiets E.I., Dey E.S., Novik G.I. Bacteriophage receptors, mechanisms of phage adsorption and penetration into host cell. *Pol J Microbiol.* 2010;59:145-155. PMID: 21033576
- Perepanova T.S. Complex treatment and prevention of hospital urinary tract infection. Russian. PhD Thesis, Moscow, 1996, 54 p. Russian. (Перепанова Т.С. Комплексное лечение и профилактика госпитальной инфекции мочевых путей. Автореферат дисс. д.м.н., Москва, 1996 г., 54 с.)

17. Bogovazova G.G. Study of biological properties and therapeutic efficacy of *Klebsiella* bacteriophage preparations. PhD Thesis, Chelyabinsk, 1993, 27 p. Russian. (Боговазова Г.Г. Изучение биологических свойств и терапевтической эффективности препаратов бактериофагов *Klebsiella*. Дисс... канд.мед.наук, Челябинск, 1993, 27 с.)
18. Voroshilova N.N. Bacteriophage preparations and their effectiveness in the treatment of enteral and purulent-septic infectious diseases caused by opportunistic bacteria. Information materials. «NPO Immunopreparat», 1996, Ufa, 17 p. Russian. (Ворошилова Н.Н. Препараты бактериофагов и их эффективность при лечении энтеральных и гнойно-септических инфекционных заболеваний, вызванных условно-патогенными бактериями. Информационные материалы. ГП «НПО Иммунопрепарат», 1996, Уфа, 17 с.)
19. Sabouri Ghannad M., Mohammadi A. Bacteriophage: time to re-evaluate the potential of phage therapy as a promising agent to control multidrug-resistant bacteria. *Iran J Basic Med Sci.* 2012;15(2):693-701. PMID: 23494063
20. Labrie S.J., Samson J.E., Moineau S. Bacteriophage resistance mechanisms. *Nat Rev Microbiol.* 2010;8:317-327. DOI: 10.1038/nrmicro2315
21. Maciejewska B., Olszak T., Drulis-Kawa Z. Applications of bacteriophages versus phage enzymes to combat and cure bacterial infections: an ambitious and also a realistic application? *Appl Microbiol Biotechnol.* 2018;102:2563-2581. DOI: 10.1007/s00253-018-8811-1
22. Levin B.R., Bull J.J. Population and evolutionary dynamics of phage therapy. *Nat Rev Microbiol.* 2004;2(2):166-173. DOI: 10.1038/nrmicro822
23. Rohde C., Resch G., Pirnay J.P., Blasdel B.G., Debarbieux L., Gelman D., et al. Expert opinion on three phage therapy related topics: bacterial phage resistance, phage training and prophages in bacterial production strains. *Viruses.* 2018;10(4):178. DOI: 10.3390/v10040178
24. Ofir G., Melamed S., Sberro H., Mukamel Z., Silverman S., Yaakov G., et al. DISARM is a widespread bacterial defence system with broad anti-phage activities. *Nat Microbiol.* 2018;3(1):90-98. DOI: 10.1038/s41564-017-0051-0
25. Goldfarb T., Sberro H., Weinstock E., Cohen O., Doron S., Charpak-Amikam Y., et al. BREX is a novel phage resistance system widespread in microbial genomes. *EMBO J.* 2015;34(2):169-183. DOI: 10.15252/embj.201489455
26. Swarts D.C., Jore M.M., Westra E.R., Zhu Y., Janssen J.H., Snijders A.P., et al. DNA-guided DNA interference by a prokaryotic Argonaute. *Nature.* 2014;507:258-261. DOI: 10.1038/nature12971
27. Bondy-Denomy J., Pawluk A., Maxwell K.L., Davidson A.R. Bacteriophage genes that inactivate the CRISPR/Cas bacterial immune system. *Nature.* 2013;493:429-432. DOI: 10.1038/nature11723
28. Torres-Barcelo C. Phage therapy faces evolutionary challenges. *Viruses.* 2018;10. pii: E323. DOI: 10.3390/v10060323
29. Stanley S.Y., Borges A.L., Chen K.H., Swaney D.L., Krogan N.J., Bondy-Denomy J., Davidson A.R. Anti-CRISPR-associated proteins are crucial repressors of anti-CRISPR transcription. *Cell.* 2019;178:1452-1464.e1413. DOI: 10.1016/j.cell.2019.07.046
30. d'Herelle F. Sur un microbein visible antagoniste des bacteries dysenteriques. *C.R. Acad. Sci.* 1917;165:373-375. DOI: 10.4161/bact.1.1.14941
31. Sulakvelidze A., Alavidze Z., Morris J.G.. Bacteriophage therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45:649-659. DOI: 10.1128/AAC.45.3.649-659.2001
32. Akimkin V.G., Efimenko N.A. The use of bacteriophages in the practice of treating various pathologies of a surgical and therapeutic profile. Methodical recommendations, M., 1998, 24 p. Russian. (Акимкин В.Г., Ефименко Н.А. Использование бактериофагов в практике лечения различных патологий хирургического и терапевтического профиля. Методические рекомендации, М., 1998, 24 с.)
33. Hodyra-Stefaniak K., Miernikiewicz P., Drapata J., Drab M., Jończyk-Matysiak E., Lecion D., et al. Mammalian Host-Versus-Phage immune response determines phage fate in vivo. *Sci Rep.* 2015;5:14802. DOI: 10.1038/srep14802
34. Carlton R.M. Phage therapy: past history and future prospects. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 1999;47:267-274. PMID: 10604231
35. Hicks L.A., Bartoces M.G., Roberts R.M., Suda K.J., Hunkler R.J., Taylor T.H., Schrag S.J. US outpatient antibiotic prescribing variation according to geography, patient population, and provider specialty in 2011. *Clin Infect Dis.* 2015;60:1308-1316. DOI: 10.1093/cid/civ076
36. Laxminarayan R., Duse A., Watal C., Zaidi A.K., Wertheim H.F., Sumpradit N., et al. Antibiotic resistance—the need for global solutions. *Lancet Infect Dis.* 2013;13:1057-1098. DOI: 10.1016/S1473-3099(13)70318-9
37. Boucher H.W., Talbot G.H., Bradley J.S., Edwards J.E., Gilbert D., Rice L.B., et al. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2009;48:1-12. DOI: 10.1086/595011
38. Centers for Disease Control and Prevention. Vital signs: carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2013;62:165-170. PMID: 23466435
39. Luepke K.H., Suda K.J., Boucher H., Russo R.L., Bonney M.W., Hunt T.D., Mohr J.F. Past, present, and future of antibacterial economics: increasing bacterial resistance, limited antibiotic pipeline, and societal implications. *Pharmacotherapy.* 2017;37:71-84. DOI: 10.1002/phar.1868
40. Parfenyuk R.L. Microbiological bases of oral phage therapy of pyoinflammatory diseases. PhD Thesis, M., 2004, 24 p. Russian. (Парфенюк Р.Л. Микробиологические основы пероральной фаготерапии гнойно-воспалительных заболеваний: Автореферат дис. канд. биол. наук, М., 2004 г., 24 с.)
41. Trushkov A.G. Problems of perinatology and reproductive health: Collection of scientific papers dedicated to the 25th anniversary of the Department of obstetrics and gynecology of Perm State Medical Academy. Perm, 2002, p. 213-215. Russian. (Трушков А.Г. Проблемы перинатологии и репродуктивного здоровья: Сборник научных трудов, посвященных 25-летию кафедры АиГ ГОУ ВПО «ПГМА МЗ РФ». Пермь, 2002, с. 213-215.)
42. Subbotin A.V., Funke E.V., Urman M.G., Horovits E.S., Maslov Yu.N., Odintsova O.V. Health and education: Proceedings of the international scientific and practical

- conference. Perm, 2006, p. 191-197. Russian. (Субботин А.В., Функер Е.В., Урман М.Г., Горовиц Э.С., Маслов Ю.Н., Одинцова О.В. Здоровье и образование: Материалы международной научно-практической конференции. Пермь, 2006, с. 191-197.)
43. Tokarev M.V., Davidov M.I., Funkner E.V. Topical issues of clinical medicine: collection of scientific papers dedicated to the 130th anniversary of the Perm City Clinical Hospital №6. Perm, 2005, p. 45-47. Russian. (Токарев М.В., Давидов М.И., Функнер Е.В. Актуальные вопросы клинической медицины: сборник научных трудов, посвященный 130-летию Пермской ГКБ №6. Пермь, 2005, с. 45-47.)
 44. Lazareva E.B. Bacteriophages for the treatment and prevention of infectious diseases. *Antibiotiki i himioterapija*. 2003;48(1):36-40. Russian. (Лазарева Е.Б. Бактериофаги для лечения и профилактики инфекционных заболеваний. *Антибиотики и химиотерапия*. 2003;48(1):36-40.)
 45. Gostishchev V.K., Stanoevich U.S., Aleshkin V.A., Afanasyev S.S. Tertiary peritonitis: the possibilities of its prevention. *Hirurgija*. 2007;9:15-18. Russian. (Гостищев В.К., Станоевич У.С., Алешкин В.А., Афанасьев С.С. Третичный перитонит: возможности его профилактики. *Хирургия*. 2007;9:15-18.)
 46. Khairullin I.N., Pozdeev O.K., Shaimardanov R.Sh. The effectiveness of the use of specific bacteriophages in the treatment and prevention of surgical postoperative infections. *Kazanskij medicinskij zhurnal*. 2002;83(4):258-261. Russian. (Хайруллин И.Н., Поздеев О.К., Шаймарданов Р.Ш. Эффективность применения специфических бактериофагов в лечении и профилактике хирургических послеоперационных инфекций. *Казанский медицинский журнал*. 2002;83(4):258-261.)
 47. Kutateladze M., Adamia R. Phage therapy experience at the Eliava Institute. *Med Mal Infect*. 2008;38:426-430. DOI: 10.1016/j.medmal.2008.06.023
 48. Kutateladze M., Adamia R. Bacteriophages as potential new therapeutics to replace or supplement antibiotics. *Trends Biotechnol*. 2012;28:591-595. DOI: 10.1016/j.tibtech.2010.08.001.
 49. Slopek S., Weber-Dabrowska B., Dabrowski M., Kucharewicz-Krukowska A. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections in the years 1981-1986. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 1987;35:569-583. PMID: 3455647
 50. Lang G., Kehr P., Mathevon H., Clavert J.M., Sejourne P., Pointu J. [Bacteriophage therapy of septic complications of orthopaedic surgery [author's transl]. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot*. 1979;65:33-37. PMID: 156386
 51. Prokopenko E.I., Shherbakova E.O., Vatazin A.V., Budnikova N.E., et al. The use of a bacteriophage for the treatment of septic complications in patients with renal allografts. *Urologiia*. 2005;6:43-46. Russian. (Прокопенко Е.И., Щербакова Е.О., Ватазин А.В., Будникова Н.Е. и соавт. Применение бактериофага для лечения гнойно-септических осложнений у больной с почечным аллотрансплантатом. *Урология*. 2005;6:43-46.)
 52. Perepanova T.S., Darbeeva O.S., Kotlyarova G.A., Kondratyeva E.M., Maiskaya L.M., Malysheva V.F., et al. The effectiveness of bacteriophage preparations in the treatment of inflammatory urological diseases. *Urologija i nefrologija*. 1995;5:14-17. Russian. (Перепанова Т.С., Дарбеева О.С., Котлярова Г.А., Кондратьева Е.М., Майская Л.М., Малышева В.Ф. и соавт. Эффективность препаратов бактериофагов при лечении воспалительных урологических заболеваний. *Урология и нефрология*. 1995;5:14-17.)
 53. Zorkin S.N., Shakhnovskiy D.S. Possibilities of bacteriophage therapy in the treatment of patients with complicated urinary tract infection. *Pediatricheskaja farmakologija*. 2013;10(4):132-138. Russian. (Зоркин С.Н., Шахновский Д.С. Возможности бактериофаготерапии при лечении больных с осложненной инфекцией мочевых путей. *Педиатрическая фармакология*. 2013;10(4):132-138.) DOI: 10.15690/pf.v10i4.767
 54. Anikina T.A., Ryazanova S.Kh., Sergeeva E.N. Freshly isolated strains of pathogens are the most important component in the production of adapted therapeutic and prophylactic bacteriophages. «ImBio». Nizhny Novgorod: Vaccinology, 2006; p. 3. Russian. (Аникина Т.А., Рязанова С.Х., Сергеева Е.Н. Свежевыделенные штаммы возбудителей-важнейший компонент производства адаптированных лечебно-профилактических бактериофагов. «ИмБио». Нижний Новгород: Вакцинология, 2006; с. 3.)
 55. Costerton J.W., Stewart P.S., Greenberg E.P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*. 1999;284:1318-1322. DOI: 10.1126/science.284.5418.1318
 56. Tolordava E.R. The role of bacterial biofilms in the etiopathogenesis of urolithiasis. PhD Thesis, M., 2014, 26 p. Russian. (Толордава Э.Р. Роль бактериальных биопленок в этиопатогенезе мочекаменной болезни. Автореферат дисс. канд. биол. наук, М., 2014, 26 с.)
 57. Ferry T., Leboucher G., Fevre C., Herry Y., Conrad A., Josse J., et al. Salvage debridement, antibiotics and implant retention ("DAIR") with local injection of a selected cocktail of bacteriophages: is it an option for an elderly patient with relapsing *Staphylococcus aureus* prosthetic-joint infection? 2018;5(11):ofy269. DOI: 10.1093/ofid/ofy269
 58. Nir-Paz R., Gelman D., Khouri A., Sisson B.M., Fackler J., Alkalay-Oren S., et al. Successful treatment of antibiotic resistant poly-microbial bone infection with bacteriophages and antibiotics combination. *Clin Infect Dis*. 2019;69:2015-2018. DOI: 10.1093/cid/ciz222
 59. Onsea J., Soentjens P., Djebara S., Merabishvili M., Depypere M., Spriet I., et al. Bacteriophage application for difficult-to-treat musculoskeletal infections: development of a standardized multidisciplinary treatment protocol. *Viruses*. 2019;11(10):891. DOI: 10.3390/v11100891
 60. Tkhilaishvili T., Winkler T., Muller M., Perka C., Trampuz A. Bacteriophages as adjuvant to antibiotics for the treatment of periprosthetic joint infection caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019;64(1):e00924-19. DOI: 10.1128/AAC.00924-19
 61. Wright A., Hawkins C.H., Harper D.R. A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic resistant *Pseudomonas aeruginosa*; a preliminary report of efficacy. *Clin Otolaryngol*. 2009;34:349-357. DOI: 10.1111/j.1749-4486.2009.01973.x
 62. Fadlallah A., Chelala E., Legeais J.M. Corneal infection therapy with topical bacteriophage administration.

- Open Ophthalmol J. 2015;9:167-168. DOI: 10.2174/1874364101509010167
63. Totté J.E.E., van Doorn M.B., Pasmans S.G.M.A. 2017. Successful treatment of chronic *Staphylococcus aureus*-related dermatoses with the topical endolysin Staphefekt SA.100: a report of 3 cases. Case Rep Dermatol. 2017;9(2):19-25. DOI: 10.1159/000473872
64. Jennes S., Merabishvili M., Soentjens P., Pang K.W., Rose T., Keersebilck E., et al. Use of bacteriophages in the treatment of colistin-only-sensitive *Pseudomonas aeruginosa* septicaemia in a patient with acute kidney injury – a case report. Crit. Care. 2017;21:129. DOI: 10.1186/s13054-017-1709-y
65. Jault P., Leclerc T., Jennes S., Pirnay J.P., Que Y.A., Resch G., 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. DOI: 10.1016/S1473-3099(18)30482-1
66. Rohde C., Wittmann J., Kutter E. Bacteriophages: a therapy concept against multi- drug-resistant bacteria. Surg Infect (Larchmt). 2018;19:737-744. DOI: 10.1089/sur.2018.184
67. Perepanova T.S., Merinov D.S., Kazachenko A.V., Khazan P.L., Malova Yu.A. Prevention of infectious and inflammatory complications after percutaneous nephrolithotripsy. Urologija. 2020;3:26-34. Russian. (Перепанова Т.С., Меринов Д.С., Казаченко А.В., Хазан П.Л., Малова Ю.А. Профилактика инфекционно-воспалительных осложнений после перкутанной нефролитотрипсии. Урология. 2020;3:26-34.) DOI: 10.18565/urology.2020.3.26-33
68. Malik D.J., Sokolov I.J., Vinner G.K., Mancuso F., Cinquerrui S., Vladislavjevic G.T., et al. Formulation, stabilisation and encapsulation of bacteriophage for phage therapy. Adv Colloid Interface Sci. 2017;249:100-133. DOI: 10.1016/j.cis.2017.05.014
69. Onsea J., Wagemans J., Pirnay J.P., Di Luca M., Gonzalez-Moreno M., Lavigne R., et al. Bacteriophage therapy as a treatment strategy for orthopaedic-device-related infections: where do we stand? Eur Cell Mater. 2020;39:193-210. DOI: 10.22203/eCM.v039a13
70. Merabishvili M., Monserez R., van Bellegghem J., Rose T., Jennes S., De Vos D., et al. Stability of bacteriophages in burn wound care products. PLoS One. 2017;12:e0182121. DOI: 10.1371/journal.pone.0182121
71. Cisek A.A., Dabrowska I., Gregorczyk K.P., Wyzewski Z. Phage therapy in bacterial infections treatment: one hundred years after the discovery of bacteriophages. Curr Microbiol. 2017;74:277-283. DOI: 10.1007/s00284-016-1166-x
72. Roach D.R., Leung C.Y., Henry M., Morello E., Singh D., Di Santo J.P., et al. Synergy between the host immune system and bacteriophage is essential for successful phage therapy against an acute respiratory pathogen. Cell Host Microbe. 2017;22:38-47.e34. DOI: 10.1016/j.chom.2017.06.018
73. Aleshkin A.V., Sel'kova E.P., Ershova O.N., Savin I.A., Shkoda A.S., Bochkareva S.S., et al. Concept of personalized phage therapy for intensive care unit patients with healthcare-associated infections. Fundamental'naja i klinicheskaja medicina. 2018;3(2):66-73. Russian. (Алешкин А.В., Селькова Е.П., Ершова О.Н., Савин И.А., Шкода А.С., Бочкарева С.С. и соавт. Концепция персонализированной фаготерапии пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии, страдающих инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи. Фундаментальная и клиническая медицина. 2018;3(2):66-73.) DOI 10.23946/2500-0764-2018-3-2-66-74
74. Abedon S.T., Thomas-Abedon C. Phage therapy pharmacology. Curr Pharm Biotechnol. 2010;11:28-47. DOI: 10.2174/138920110790725410
75. Dufour N., Delattre R., Ricard J.D., Debarbieux L. The lysis of pathogenic *Escherichia coli* by bacteriophages releases less endotoxin than by betalactams. Clin Infect Dis. 2017;64:1582-1588. DOI: 10.1093/cid/cix184
76. Van Bellegghem J.D., Merabishvili M., Vergauwen B., Lavigne R., Vaneechoutte M. A comparative study of different strategies for removal of endotoxins from bacteriophage preparations. J Microbiol Methods. 2017;132:153-159. DOI: 10.1016/j.mimet.2016.11.020
77. Kutter E., De Vos D., Gvasalia G., Alavidze Z., Gogokhia L., Kuhl S., Abedon S.T. Phage therapy in clinical practice: treatment of human infections. Curr Pharm Biotechnol. 2010;11:69-86. DOI: 10.2174/138920110790725401
78. Pires D.P., Oliveira H., Melo L.D., Sillankorva S., Azeredo J. Bacteriophage-encoded depolymerases: their diversity and biotechnological applications. Appl Microbiol Biotechnol. 2016;100:2141-2151. DOI: 10.1007/s00253-015-7247-0
79. Payne R.J., Jansen V.A. Pharmacokinetic principles of bacteriophage therapy. Clin Pharmacokinet. 2003;42:315-325. DOI: 10.2165/00003088-200342040-00002
80. Chan B.K., Abedon S.T., Loc-Carrillo C. Phage cocktails and the future of phage therapy. Future Microbiol. 2013;8(6):769-783. DOI: 10.2217/fmb.13.47
81. Loc-Carrillo C., Abedon S.T. Pros and cons of phage therapy. Bacteriophage. 2011;1:111-114. DOI: 10.4161/bact.1.2.14590