

БАКТЕРІОФАГИ: АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ БЕЗПЕЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ (огляд літератури)

П.Г. Жмінько, доктор біол. наук, О.В. Федченко, кандидат мед. наук, М.Л. Зінов'єва

ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України», м. Київ

РЕЗЮМЕ. В оглядовій статті узагальнено дані літератури щодо практики застосування бактеріофагів, викладено сучасне уявлення про їхню природу та принцип дії, окреслено властивості бактеріофагів, що надають їм переваги перед традиційними антибактеріальними засобами, сформульовано обов'язкові передумови застосування фаготерапії. Наведено дані досліджень фармакокінетики, токсикологічних властивостей на тваринах та безпеки застосування бактеріофагів у людини. Приділяється увага питанням вдосконалення методів очищення фагових препаратів, наводиться експериментальне порівняння гострої та хронічної токсичності очищених і неочищених фаголізатів. Підкреслюється, що систематизація вже наявних даних і аналіз результатів нових досліджень фагів, дотримання вимог, встановлених сучасною фармакологічною індустрією, дозволить отримати схвалення відповідних компетентних органів, надасть застосуванню бактеріофагів широкомасштабність та сприятиме вирішенню проблеми антибіотикорезистентності, що постала перед сучасною охороною здоров'я.

Ключові слова: бактеріофаги, антибіотикорезистентність, фаготерапія, токсичність, безпечність.

Останнім часом вітчизняні і зарубіжні науковці багато уваги приділяють вивченню питань ефективного і безпечного застосування бактеріофагів у медицині — для лікування і профілактики бактеріальних захворювань, з діагностичною метою — для типування мікроорганізмів, у сільському господарстві та ветеринарії — для захисту рослин, худоби та птиці від бактеріальних уражень, у харчовій промисловості — для забезпечення захисту харчових продуктів від бактеріальних агентів, у генній інженерії — для досягнення відповідних цілеспрямованих змін у геномі ДНК клітини-хазяїна, а також для вирішення багатьох інших задач у мікробіології, вірусології, біотехнології [1 – 8].

Значна зацікавленість бактеріофагами як альтернативними антибактеріальними засобами пов'язана зі збільшенням поширеності антибіотикостійких бактерій, що отримало назву епідемії резистентності [3, 9, 10 – 15]. За оцінкою Всесвітньої організації охорони здоров'я, на сьогодні близько 60 % мікробів нечутливі до основних антибіотиків, а через 10–20 років практично всі існуючі мікроорганізми можуть стати антибіотикорезистентними, причому існує навіть ймовірність повернення передпеніцилінових часів за відсутності відповідних заходів протидії [2, 6, 9, 14]. Ситуація поглиблюється також через те, що розробка нових антибіотиків не встигає за швидкістю розвитку антибіотикорезистентності. Так, за останні 30 років синтез нових антибактеріальних засобів навіть знизився: лише у 2000-х роках з'явилися препарати класу циклічних ліпопептидів і оксазолідинонів, але стійкі до них мутанти почали виявлятися у клініках менш ніж через рік [7, 14, 16, 17]. Стійкість до антимікробних препаратів зали-

шається однією з основних причин зростання захворюваності і смертності, а економічний збиток, що спричиняється виникненням антибіотикорезистентних форм бактерій, вимірюється десятками і сотнями мільйонів доларів [16]. Одним із перспективних напрямків розв'язання цієї проблеми є використання лікувально-профілактичних препаратів бактеріофагів, що спричиняють специфічну літичну дію на збудників, але при цьому вони позбавлені побічної токсичної і алергенної дії на організм людини [3, 18, 19].

Сучасне уявлення про природу бактеріофагів. Бактеріофаги відкрив в 1917 році Фелікс Д'Ерелль, співробітник Інституту Пастера у Парижі. Це високовірулентні специфічні віруси, розмірами в діапазоні наночастинок, чий антибактеріальний ефект обумовлений вибірковою проникненням у бактеріальну клітину з наступним розмноженням та лізисом інфікованої клітини [2, 6, 7, 10, 12, 18 – 21]. В результаті лізису бактеріальної клітини нова генерація бактеріофагів (10–100 віріонів у одного фага) виходить у зовнішнє середовище і повторно уражує інші клітини-мішені, причому процеси експоненціальної реплікації і лізису тривають до повного знищення патогенних бактерій у вогнищі запалення [20].

Бактеріофаги — найбільша група з відомих груп вірусів. Згідно з сучасною класифікацією бактеріофагів за морфологічними особливостями вірусних частинок-віріонів існує 13 родин, поділених на понад 140 родів, що містять понад 5300 видів фагів [22]. Більшість бактеріофагів мають дволанцюгову геномну ДНК, рідше зустрічаються фаги з одноланцюговою ДНК, а також з дво- та одноланцюговою РНК. Представники ряду Caudovirales (хвостаті бактеріофаги), які складають 96 % від усіх

відомих фагів, мають ікосаедричну голівку та спіральний хвіст з унікальною структурою, кінцеві відділи якого мають здатність приєднуватися до специфічних молекул на поверхні клітини-мішені. В голівці знаходиться геномна ДНК, в середині хвоста розташований хвостовий канал, по якому здійснюється ін'єкція геному фага під час інфікування клітини-хазяїна [22]. Для проникнення в клітину бактерії та виходу з неї більшість бактеріофагів використовують «пептидогліканлізуючі ферменти» (ПЛФ). Однією з важливих властивостей ПЛФ є здатність вибірково руйнувати клітинні стінки тих видів бактерій, проти яких спрямовані фаги, що кодують ці ферменти. Наприклад, ПЛФ фагів стафілококів руйнують пептидоглікани стафілококів, а ферменти пневмококових фагів – клітинну стінку пневмококів [2, 22].

Бактеріофаги – стародавні мешканці планети, для яких характерною є висока поширеність: кожен грам ґрунту, кожен мілілітр води та повітря, продукти харчування, рослини, тварини містять мільйони фагових частинок, які, крім того, виявляються у великих кількостях на шкіряному покриві та слизових оболонках, в травному тракті тварин і людини, тобто усюди, де присутні відповідні бактерії [20, 21].

В залежності від можливих життєвих циклів існують літичні (вірулентні) та лізогенні (помірні) бактеріофаги [2 – 7, 12, 20, 21, 22]. Літичні бактеріофаги інфікують бактерії у декілька етапів: спочатку відбувається адсорбція фага на поверхні бактеріальної клітини за рахунок зв'язування з клітинними рецепторами, після чого – проникнення ДНК фага всередину клітини, інгібування синтезу білків хазяїна та перемикання на синтез власних білків, збирання вірусних частинок, лізис клітинної стінки бактерії та вихід численної популяції нової генерації фага, яка повторно уражує інші клітини-мішені [22].

Лізогенні (помірні) бактеріофаги інфікують бактеріальні клітини за лізогенним типом – без загибелі клітини-хазяїна. У цьому випадку фаги інтегрують свою ДНК у ДНК хазяїна, і геном може у такому вигляді передаватися новим фаговим генераціям та іншим клітинам бактеріальної популяції. Тільки серед невеликої кількості лізогенних бактерій, спонтанно або внаслідок дії мутагенних факторів, лізогенна інфекція може перейти в літичну, яка закінчується загибеллю клітини-хазяїна. Бактерії, що носять помірний фаг, називають лізогенними, присутній в них фаг – профагом, а симбіоз бактеріальної клітини з фагом – лізогенією. Лізогенізація бактерій супроводжується зміною їхніх морфологічних, культу-

ральних, ферментативних, антигенних і біологічних властивостей, чутливості до антибіотиків, що отримало назву фагової конверсії. Для деяких бактерій (наприклад, коринебактерій дифтерії) здатність виробляти екзотоксини детермінована саме внутрішньоклітинними фагами. В наслідок конверсії лізогенія забезпечує бактеріальну клітину певними перевагами (наприклад, резистентністю до дії інших фагів) та надає можливість трансдукції (процес переносу бактеріальних генів від однієї клітини до іншої за допомогою фага) [4, 6, 21]. Трансдукція відіграє важливу роль у генетичному обміні бактерій і може забезпечувати перенос генів, що детермінують патогенність бактерій. Саме тому лізогенні фаги не придатні для лікувальних цілей та використовуються з метою диференціювання різних бактеріальних штамів (фаготипування), тобто для моніторингу їх розповсюдженості. Однією з головних вимог до бактеріофагів, що використовуються в якості лікувально-профілактичних препаратів, є наявність в них саме літичного циклу розвитку, внаслідок якого відбувається загибель бактеріальної клітини-мішені. За певними ділянками генів, що кодують білок капсиду бактеріофага, можливо швидко та з великою часткою вірогідності визначити його належність до родини літичних фагів, для чого розроблено універсальну систему PCR-визначення [17].

Особливості застосування бактеріофагів.

Починаючи з 20-х років ХХ століття, бактеріофаги вже успішно використані в деяких країнах Східної Європи, колишнього СРСР та, до настання ери антибіотиків, в США та інших країнах Заходу [2, 6, 12, 16, 18, 23]. Період первинного інтересу до фаготерапії швидко змінився тривалим періодом охолодження, майже до відмови від цього напрямку лікування. Це пояснюється великим успіхом антибіотикотерапії та наступними чинниками, такими як невідомі на той час особливості взаємодії бактеріофага з мікробною клітиною, відсутність в середині ХХ століття належного контролю якості препаратів, що часто призводило до застосування бактеріофагів у випадкових концентраціях та з невідомим складом, емпіричні способи терапії, застосування помірних фагів. Всі ці фактори обумовлювали важко прогнозовані результати лікування та, відповідно до цього, відходження фаготерапії на другий план [2, 6, 9, 12, 18].

Але, коли з'явилося чітке розуміння природи бактеріофагів, їхніх властивостей та багато іншої достовірної наукової інформації, настало визнання фагів як корисних інструментів молекулярної біології. Саме тому у 1980 році група британських вчених вирішила знову

звернути увагу на перспективи фаготерапії. Результати їхніх досліджень викладені в наукових роботах, зокрема в такій – «Успішне лікування експериментальної інфекції мишей, викликаной *Escherichia coli*, за допомогою фагів: повна перевага над антибіотиками» [7]. Але вона не привернула належної уваги через достатню на той час ефективність антибіотиків у практичній медицині. Та це тривало недовго: починаючи з 1990-років, з появою антибіотикостійких «супербактерій», список яких очолив метицилін-резистентний *Staphylococcus aureus*, в науковому світі з'явилося припущення щодо початку «постантибіотичної ери».

Отже, на сучасному етапі ми спостерігаємо відновлення втраченого інтересу до фаготерапії та відродження практики застосування бактеріофагів на Заході, про що свідчить той факт, що на початку 2000-х років у США було налагоджено випробування фагових препаратів для отримання ліцензії на їхнє застосування та вже в 2007 році бактеріофаги схвалені Управлінням з контролю за продуктами та лікарськими засобами (FDA) для використання в якості антибактеріального компонента в усіх готових до споживання продуктах [2, 17, 19, 20].

Застосування фагів у людини може бути пероральним, у вигляді таблеток або рідин (від 10^5 до 10^{11} БУО/дозу), ректальним, місцевим (шкіра, очі, вуха, слизові оболонки), у тампонах, у розчинах для полоскання, кремах, у вигляді аерозолів, внутрішньовенних та внутрішньоплевральних ін'єкцій, при їх використанні практично не було жодних повідомлень про серйозні ускладнення [9, 16, 23]. Отже, загальноприйнятною є думка, що препарати бактеріофагів є нетоксичними та безпечними для людини, тому вони не мають протипоказань до застосування, їх можна призначати особливим групам пацієнтів (вагітні, матері, що годують, та діти будь-якого віку) [2, 9, 16, 18, 21].

Сучасні лікувально-профілактичні препарати бактеріофагів являють собою комплекс поліклональних високовірулентних бактеріальних вірусів (у вигляді стерильного фільтрату бактеріальних фаголізатів) з широким спектром антибактеріальної активності щодо стафілококів, стрептококів, ентерококів, кишкової палички, протею, синьогнійної палички, клебсієли, шигели, сальмонели та багатьох інших мікрорганізмів [9, 16, 18, 19]. За своїм складом препарати бактеріофагів поділяються на полівалентні (активні щодо різних видів і сероварів одного збудника) і комбіновані (містять фаги до декількох збудників) [19].

Виробництво бактеріофагів складається з декількох етапів: накопичення біомаси бактеріофагів шляхом динамічного культивування на клітинах популяції штамів продуцентів

фагів, що перебувають у стадії експоненціального росту, після чого за допомогою мембранних методів очищення фаголізат звільняють від решток бактеріальних клітин, антигенів і токсинів, отримуючи таким чином препарат зі ступенем очищення більш ніж 92 % [1]. Пошук фагорезистентних штамів мікроорганізмів та підбір для них фагів з наступним включенням у виробництво дозволяє підтримувати літичну активність препаратів на високому рівні протягом тривалого часу [9]. Препарати бактеріофагів постійно збагачуються новими фаговими клонами відповідно до сучасної етіології бактеріальних захворювань [2].

Властивостями бактеріофагів, що забезпечують можливість їхнього ефективного використання та надають їм переваги перед традиційними антибактеріальними засобами є [3, 5, 12, 18, 19]:

- принцип самодозування: бактеріофаги є організмами, здатними до самовідтворення, самостійно регулюють свою чисельність (зменшуючи або збільшуючи її), оскільки розмножуються, доки є чутливі бактерії, після чого елімінуються з організму або оточуючого середовища;
- фаги використовують в якості мішеней саме ті рецептори на бактеріальній поверхні, які беруть участь у патогенезі, тобто уражають високовірулентні бактерії;
- бактеріофаги мають бактерицидну дію: бактерія, одноразово уражена літичним фагом, не відновлює свою життєздатність;
- висока специфічність: здатність вибірково лізувати лише бактерії певного виду або їх окремі серологічні групи;
- ефективна дія на біоплівкову організацію бактерій: якщо антибіотики здатні знищувати біоплівку в концентраціях, що значно перевищують мінімальні пригнічуючі концентрації для планктонних культур, і можуть бути небезпечними для людини, то вплив фагів проявляється навіть при застосуванні звичайних терапевтичних доз [8];
- відсутність у фагів токсичного ефекту щодо нормальної симбіотичної мікрофлори організму людини, тому природний баланс внутрішнього середовища організму не порушується;
- наявність побічних ефектів та ускладнень для препаратів бактеріофагів не характерна (рідко – алергічні реакції, реакція вивільнення при масивному руйнуванні мікроорганізмів), в той час як, крім поширених дисбіотичних змін, антибактеріальні засоби часто викликають алергічні, токсичні та конкурентні ефекти (по відношенню до інших медикаментів).

Але на фоні відносно великої кількості існуючої наукової інформації стосовно бакте-

ріофагів є ряд практичних питань, що потребують належної уваги, враховуючи безперервну динамічність процесів взаємодії живих систем. Тому обов'язковими передумовами застосування фаготерапії є наступні [9, 10, 14, 22]:

- досконале вивчення питання біології взаємодії бактеріофага з бактерією-хазяїном, особливо динаміки фагового інфікування в експериментах *in vivo*, що дозволить пояснити той факт, коли фаг, що активно реплікує в бактеріальній культурі, є неефективним під час лікування бактеріальної інфекції.
- отримання інформації щодо фагового рецептора (існує можливість спонтанних мутацій, що призводять до втрати або зміни рецептора);
- перевірка імуногенності бактеріофага, що може обумовлювати серйозні побічні ефекти алергічного характеру, в тому числі розвиток анафілактичного шоку. Більшість фагів при первинному застосуванні є «нео-антигенами» для організму людини і тварин, тому антитіла до них відсутні. В експериментах продемонстровано, що при однократному прийомі імунна відповідь на присутність фагів є незначною, не викликає виражених токсичних ефектів та не впливає на терапевтичний ефект фага. Але при багаторазовому застосуванні фага стимуляція імунної системи може бути потенційно небезпечною;
- оцінка генної безпеки: потрібно мати інформацію щодо генома бактеріофага, оскільки окремі фаги можуть нести гени факторів вірулентності або токсинів, а деякі продукти генів можуть бути токсичними для людини. Крім того, можливі токсичні ефекти терапевтичного застосування фагів можуть бути пов'язаними з фаг-асоційованими токсинами (наприклад, дифтерії, ботулізму, холери) та конверсією Tox^{+++} бактерій в Tox^{++} під дією бактеріофага (наприклад, *S. pyogenes*) [14]. Важливо мати гарантії того, що бактеріофаги не спричиняють генералізовану трансдукцію та не мають генних послідовностей зі значною гомологією з відомими генами антибіотикорезистентності, з генами, що кодують токсини, та генами інших факторів бактеріальної вірулентності [6, 24];
- суворе дотримання відповідних умов виробництва (Good Manufacturing Practice) та зберігання фагових препаратів, зважаючи на те, що вони містять інфікуючі частинки фага;
- лікувально-профілактичні бактеріофаги мають бути літичними, а не помірними (лізогенними).

- ефективність і безпечність фаготерапії та фармакокінетика фагів має бути вивчена на відповідній тваринній моделі до їх застосування;
- препарати бактеріофагів повинні відповідати всім вимогам безпеки та бути вільними від бактеріальних та токсичних забруднень [3].

Крім того, згідно з даними Б.І. Асланова (2009), застосування бактеріофагів за відсутності фагочутливості до них мікробного агента-збудника може сприяти посиленню або розвитку антибіотикорезистентності у цього мікроорганізму. Також у науковій літературі відзначено ризик розвитку реакції загострення Яріша-Гексгеймера, що розвивається у наслідок вивільнення великої кількості токсинів при масивній загибелі мікроорганізмів під час внутрішньовенного введення препарату бактеріофага [25].

Фармакокінетика бактеріофагів. В існуючих наукових публікаціях підкреслюється, що нині кількість даних щодо фармакокінетики фагів досить обмежена, незважаючи на тривалу історію їхнього використання [23, 26].

Відомо, що фаги здатні проникати крізь епітеліальні бар'єри слизових оболонок за допомогою рецептор-залежного транспорту, який забезпечують спеціалізовані клітини імунної системи (М-клітини, бокалоподібні клітини) та, можливо, й інші клітини кишкового епітелію [20]. Бактеріофаг, незалежно від способу введення, легко потрапляє в загальний кровотік, але в крові не затримується та адсорбується тканинами, осідаючи, насамперед, у лімфатичних вузлах, печінці та селезінці [20, 26]. Після перорального прийому фагові частинки виявляються через 1 год. у зразках крові, через 1–1,5 год. – на поверхні опікових ран та бронхіальному вмісті, через 2 год. – у лікворі та сечі. Виведення фагів з організму здійснюється через кишечник та нирки: після однократного прийому пацієнтами фаги вивільнялись з сечею протягом 5–6 діб з поступовим зменшенням титру. Гематоенцефалічний бар'єр не є перепорою для проникнення фагів у центральну нервову систему. Зазначається, що швидкість транслокації фагів, як і бактерій, із шлунково-кишкового тракту в кров може суттєво змінюватись під час різних фізіологічних станів – під час запальної реакції вона значно збільшується [20].

Результати експериментів, присвячених вивченню фармакокінетики бактеріофагів в організмі лабораторних тварин (миші, мурчак, собаки) показали присутність бактеріофагів у крові та паренхіматозних органах (печінці, селезінці, серці, нирках, лімфатичних вузлах) через 5–10 хвилин після парентерального введення та через 1 годину після перорального прийому препаратів фагів [27]. У 1921 році

R. Appelmans вперше визначив, що після ін'єкційного введення фагів у кровоносне русло неінфікованих кролів, вони швидко зникають з організму за відсутності відповідних бактерій-мішеней (при цьому найдовше вони персистують у селезінці) [26, 29]. В результаті проведеного експерименту на мишах з'ясовано, що період напіввиведення бактеріофагів із сироватки крові тварин становить близько 4 годин [28]. Інші дослідження продемонстрували, що титр фагів у крові мишей після перорального введення знижується на 7 порядків протягом двох годин, а після внутрішньовенної ін'єкції відбувається швидке (в межах 5-15 хвилин) видалення фагових частинок із системи циркуляції крові [22]. Фаги ефективно виводяться з кровотоку ретикулоендотеліальною системою печінки та селезінки [19, 23]. Використовуючи фаги, мічені ^{51}Cr , С.І. Inchley (1969) виявив, що після внутрішньовенної ін'єкції, в печінці відбувається фагоцитоз понад 99 % Т4-фагів протягом 30 хвилин [23, 26, 29]. Макрофаги селезінки також беруть участь у інактивації бактеріофагів, але їхня роль у цьому процесі значно менша, ніж печінкових клітин Купфера [30].

Фармакокінетику таблетованого та рідкого препарату Секстафаг® (суміш шести очищених бактеріофагів – стафілококового, стрептококового, клебсієльозного, синьогнійного, колі-фага та протейного) вивчали на білих мишах після однократного перорального введення в кількості, еквівалентній 10 терапевтичним дозам для людини [31]. Результати дослідження продемонстрували, що при пероральному надходженні препарату до організму відбувається всмоктування фагів у кров, циркуляція в організмі та виведення з сечею і калом. Незалежно від лікарської форми всі компоненти Секстафага® виявлялись у сироватці крові, сечі, калі вже через 2 годин після прийому препарату.

Характерною особливістю більшості ранніх досліджень на тваринних моделях було здійснення їх за відсутності бактерії-мішені, що, без сумніву, мало вплив на отримані результати. Нещодавно експериментально продемонстровано, що присутність відповідної бактерії-хазяїна збільшує тривалість перебування бактеріофагів в циркуляторному руслі ссавців незалежно від способу введення до декількох днів [29]. Інші існуючі публікації свідчать про те, що фаги потрапляють у кровотік лабораторних тварин після однократної пероральної дози упродовж 2-4 годин та знаходяться у внутрішніх органах (печінка, селезінка, нирки) приблизно 10 годин [23].

Складність вивчення параметрів фармакокінетики бактеріофагів обумовлена самореплі-

куючою природою фагів та тим фактом, що параметри росту фага *in vitro* неможливо безпосередньо переносити в ситуацію *in vivo*, причому значення цих параметрів можуть значно відрізнятися для кожного конкретного фага [22]. Параметри, що підлягають вивченню: швидкість адсорбції фага, середній вихід фага після лізису культури, латентний період, початкова доза фага, порогові значення щільності, критичні періоди, швидкість виведення фагових частинок із організму ретикулоендотеліальною системою [10, 22].

Незважаючи на те, що завдяки пероральному введенню препаратів бактеріофагів можна дещо зменшити можливі токсичні ефекти, пов'язані з їхнім забрудненням ендо- та екзотоксинами, що досить часто присутні навіть у фільтрованих фагових препаратах, цей шлях введення не можна вважати оптимальним засобом при лікуванні системних інфекцій. Тому визначення найбільш ефективного способу застосування бактеріофагів також потребує фармакокінетичних досліджень [26, 29].

Дослідження токсикологічних властивостей бактеріофагів. Результати дослідження перорального застосування специфічного бактеріофага рН 57, виділеного з екскрементів тварин віварію, в кількості 500 мкл с титром 8×10^7 БУО/мл у щурів свідчать про його високу ефективність у лікуванні експериментальної пневмонії, викликаній синьогнійною паличкою (*Pseudomonas aeruginosa*), але морфологічне обстеження виявило деякі зміни внутрішніх органів тварин: ознаки абсцедування в легенях, дистрофічні зміни гепатоцитів, гіпертрофію і гіперемію селезінки, гіпертрофію та гіперплазію лімфоїдних вузликів у селезінці [32]. Ці ускладнення можуть бути як наслідком пневмонії, так і обумовлюватися використанням фага. Патологічні зміни в органах ретикулоендотеліальної системи (в печінці та селезінці) можна пояснити різними механізмами, у тому числі не виключається можливість того, що фаг як організм, що містить білковий капсид та чужорідну ДНК, може мати антигенні властивості та спричиняти імунні реакції у відповідь на фаготерапію у вигляді уражень печінки та селезінки. Якщо у випадку нелікованої пневмонії, селезінка піддослідних щурів була практично “порожньою” (зменшення розміру органу, кількості вузликів та клітин), то після фаготерапії, навпаки, спостерігались морфологічні ознаки активації селезінки (збільшення розміру органу, гіпертрофія та гіперплазія лімфоїдних вузликів). Поряд з даними літератури про особливі показання до проведення фагової терапії у осіб з алергією до антибіотиків існують дані про неспроможність систем захисту організму, особливо органів

ретикулоендотеліальної системи, щодо повного видалення частинок бактеріофагів з кровеносної системи. *S. Slopek* та співавтори наводять дані про те, що приблизно через 3-5 діб після використання бактеріофага часто виникає біль у ділянці печінки тривалістю декілька годин, та припускають, що це ускладнення може мати етіологічний зв'язок з вивільненням великої кількості ендотоксинів при інтенсивній загибелі бактерій під дією фагів. Тому неможливо виключити ймовірності того, що дистрофічні зміни гепатоцитів та гіпертрофічні процеси в селезінці обумовлюються саме лізисом синьогнійної палички [32].

Останнім часом проводяться дослідження імуномодельюючих властивостей як очищених фагів, так і препаратів, що, крім фагових частинок, містять лізати бактерій та доволі часто компоненти культурального середовища [33]. Відомо, що фаги при пероральному введенні можуть проникати через слизову оболонку шлунково-кишкового тракту та деякий час персистувати в організмі, при цьому вони можуть потрапляти всюди від лімфатичних судин до селезінки та чинити прямий вплив на імунокомпетентні клітини. В дослідженні фаголізу бактеріофага ph 57 *Pseudomonas aeruginosa* на щурах-самцях його введення безпосередньо в травний тракт тварин (протягом 20 діб у дозі, яка еквівалентна разовій дозі для людини при перерахуванні на 1 кг маси) супроводжувалось поширеними некрозами паренхіми, вираженою дифузною та вогнищевою лейкоцитарною інфільтрацією печінки, збільшенням кількості купферівських клітин, що пов'язують з безпосереднім надходженням у даний орган великої концентрації частинок бактеріофага у поєднанні з токсинами та антигенами синьогнійної палички [33]. В групах контролю пероральне введення клітинного лізату *Pseudomonas aeruginosa* (без частинок фага) або чистого поживного середовища не супроводжувалося некробіотичними змінами. Під час внутрішньовенного введення фаголізу зміни печінки, у порівнянні з інтактним контролем, майже відсутні. Тому не виключається, що при пероральному введенні, на відміну від внутрішньовенного, бактеріофаг потрапляє у печінку в значно більшій концентрації та спричиняє певну антигенну дію на неї, що призводить до повнокров'я органу, міграції в печінку попередників макрофагів та диференціювання їх в клітини Купфера. Також відбувались зміни брижових лімфатичних вузлів (розширення гермінативних центрів лімфоїдних вузликів у поєднанні з великою кількістю деструктивно змінених клітин, наявність еозинофілів, великий вміст макрофагів у синусах мозкової речовини) як після перорального

введення фаголізу щурам, так і в групах контролю (використання поживного середовища або клітинного лізату *Pseudomonas aeruginosa*). Внутрішньовенне введення фаголізу сприяло майже повному збереженню структури лімфатичних вузлів. У селезінці найбільш виразні зміни виникали під час введення поживного середовища *Luria-Bertani* (застосовується для культивування *Pseudomonas aeruginosa*), в той час як застосування фага ph 57 не спричинило значних змін в структурі селезінки. Дослідниками зроблено висновок, що перед застосуванням бактеріофага *in vivo* потрібне ретельне очищення препарату не лише від залишків мікроорганізмів – хазяїв фага, але й від компонентів поживного середовища для культивування бактерій [33].

Результати експериментів, проведених з метою вивчення токсикологічних властивостей очищених препаратів бактеріофагів, відрізняються відсутністю макро- та мікроскопічних патологічних змін внутрішніх органів тварин незалежно від способу введення фагових препаратів.

Так, в дослідженні гострої та хронічної пероральної токсичності рідкого очищеного сальмонельозного бактеріофага на білих мишах введення препарату не викликало загибелі тварин, не призводило до появи клінічних симптомів інтоксикації, не впливало на масу тіла [34]. Результати патоморфологічного дослідження продемонстрували відсутність патологічних змін внутрішніх органів у дослідній та контрольній (введення 0,9 % фізіологічного розчину) групах.

У дослідженні гострої токсичності препаратів бактеріофагів на мишах та мурчаках з експериментальними інфекціями, викликаними *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella rhinoscleromatis* та *Klebsiella pneumoniae*, продемонстровано відсутність токсичних ефектів, макроскопічних і гістопатологічних змін після внутрішньовенного, інтраназального та інтраперитонеального введення, навіть після дози приблизно в 3500 разів вище терапевтичної дози для людини (при перерахунку на масу тіла) [23].

Експерименти з вивчення гострої токсичності препарату Секстафаг® проводили на білих мишах, яким однократно перорально вводили бактеріофаг у дозах, еквівалентних 10, 100 і 300 терапевтичним дозам для людини. В результаті протягом 14 діб не спостерігалось загибелі тварин, зниження маси тіла та симптомів інтоксикації, макроскопічне дослідження не виявило патологічних змін внутрішніх органів [31].

При одноразовому нашкірному нанесенні мишам тест-зразка гелю з бактеріофагом ста-

філококовим у дозі 22600 мг/кг зафіксовано незначне невірогідне коливання маси тіла дослідних тварин (у порівнянні з інтактною групою), клінічних симптомів інтоксикації та загибелі тварин не спостерігалось. По закінченню 14-денного терміну спостереження під час макроскопічного дослідження внутрішніх органів патологічних процесів не виявлено [35]. Отже, дослідниками зроблено висновок, що гель з бактеріофагом стафілококовим відноситься до речовин VI класу токсичності (відносно нетоксичні речовини) [36].

Гостру дермальну токсичність комплексу віріонів бактеріофагів стафілококу, стрептококу, протею, клебсієли, кишкової та синьогнійної паличок у вигляді піни вивчено при одноразовому нашкірному нанесенні шурам-самкам у дозі 22600 мг/кг [11]. В результаті – загибелі тварин не зафіксовано, динаміка маси тіла піддослідної групи не відрізнялася від динаміки в інтактній групі, патоморфологічне дослідження внутрішніх органів патології не виявило. Відразу після нанесення піни у тварин дослідної групи, на відміну від інтактної, спостерігали млявість і відсутність апетиту, але через декілька годин у щурів відновився нормальний стан, фізична активність і апетит. Таким чином, проведене дослідження показало, що при нашкірному застосуванні піна медична з комплексом бактеріофагів, згідно з класифікацією речовин за токсичністю, належить до VI класу токсичності (відносно нешкідливі речовини) [36].

У комплексному дослідженні самкам мишей перорально протягом 1 місяця вводили різноманітні очищені колі-фаги T4 (окремо або у вигляді суміші) у дозі 10^9 БУО/мл питної води [24]. В результаті не спостерігали проявів будь-яких токсичних ефектів: у всіх тварин приріст маси тіла був нормальним, клінічні симптоми інтоксикації відсутні. В кінці дослідження фаги були відсутні в зразках крові, печінки, селезінки (ліміт визначення 50 БУО/г). У ході експерименту проводили визначення сироваткових антитіл до фага T4 – результат негативний. Крім того, макроскопічне дослідження шлунково-кишкового тракту піддослідних тварин не виявило ознак запалення.

Дослідження хронічної токсичності бактеріофага ентеробактер полівалентного очищеного проведено на щурах згідно з вимогами GLP: препарат вводили внутрішньошлунково, внутрішньоочередно протягом 30 днів у максимальній переносимій дозі (МПД), що відповідає 10 вищим терапевтичним дозам (ВТД) [37]. Отримані результати свідчать, що 30-денне введення досліджуваного препарату у ВТД і МПД не впливає на загальний стан, ори-

єнтовно-дослідницьку діяльність та емоційний статус досліджуваних тварин. Величини змін фізіологічних, біохімічних, гематологічних показників не мали вірогідних відмінностей між піддослідною і контрольною групами. Дані патоморфологічного і гістологічного дослідження свідчать про відсутність дистрофічних, деструктивних, вогнищевих склеротичних змін в паренхімі та стромі внутрішніх органів. Отже, досліджуваний препарат не чинить токсичний вплив на організм тварин.

Крім того, в опублікованих статтях за результатами інших досліджень застосування фагів у тварин, повідомляється про відсутність побічних і непередбачуваних ефектів бактеріальних вірусів (Berchieri et al., 1991; Biswas et al., 2002; Cerveny et al., 2002; Chibani-Chennoufi et al., 2004; Merrill et al., 1996).

Токсичність препаратів бактеріофагів *Enterobacter* вивчалась в експериментах гострої та хронічної токсичності на білих мишах [38]. Встановлено, що препарат, очищений від залишків бактеріальних клітин та баластних речовин до показника 91,8 % за допомогою методу ультрафільтрації в тангенціальному потоці з наступною проточною мікрофільтрацією, є нетоксичним при парентеральному надходженні в організм. У той час як у дослідженні гострої токсичності неочищений препарат під час внутрішньоочередового введення в дозі, що перевищує в 1500 разів максимальну разову дозу (при перерахунку на одиницю маси тіла) спричиняв зниження маси тіла, загибель 60 % тварин в перші 72 години після введення, гістологічні зміни, які проявились помірними циркуляторними порушеннями, дистрофічними змінами печінки та нирок. Під час дослідження хронічної токсичності (протягом 20 днів) при парентеральному введенні неочищеного препарату бактеріофагів *Enterobacter* у терапевтичних дозах (при перерахунку на одиницю маси тіла) зареєстровано зниження маси тіла, загибель 40 % тварин протягом 13-18 доби експерименту, гістологічно – гемодинамічні порушення, дистрофічні зміни в легенях, печінці, селезінці [38].

Ефективним способом очищення препаратів бактеріофагів є метод мембранного розділення [1]. Ступінь очищення препарату в цьому разі становить понад 92 %. Ефективність цього способу очищення показана в експериментах гострої та хронічної токсичності при порівнянні очищених і неочищених фаголізатів. Забруднення вихідного матеріалу бактеріофагів залишковими продуктами бактеріального лізису, які, як правило, містять токсини, може викликати симптоми, починаючи від незначного підвищення температури, аж до загибелі тварин.

З огляду на вищесказане, було проведено комплексне дослідження, спрямоване на вивчення проблеми вдосконалення методів очищення препаратів фагів з метою зменшення концентрації токсинів до рівнів, спроможних спричинити лише мінімальні побічні ефекти. Крім того, однією із цілей даного дослідження була розробка методів ізоляції фагів-мутантів, які мають здатність уникати захоплення ретикуло-ендотеліальною системою [39]. Інтраперитонеальна ін'єкція 10^9 БУО стерильного фаголізату λ (*Escherichia coli*) викликала лише незначну клінічну реакцію у мишей у вигляді скуйовдженої шерсті, незважаючи на рівень ендотоксину 5×10^4 ЕО/мл у препараті фага. На противагу цьому ін'єкція стерильного фаголізату P22 (*Salmonella typhimurium*) призвела до загибелі всіх тварин протягом 12 годин після введення при рівні ендотоксину 5×10^5 ЕО/мл. Крім того, інтраперитонеальне введення очищених шляхом центрифугування в градієнті щільності хлориду цезію фаголізатів бактеріофагів λ та P22 з рівнями ендотоксинів, зменшеними до $0,3 \times 10^1$ та 1×10^3 ЕО/мл відповідно, не супроводжувалось появою клінічних симптомів інтоксикації у піддослідних мишей. Отже, в даному дослідженні показано, що препарати різних фагів можуть мати різну токсичність при подібних рівнях ендотоксину: у той час як вміст токсину у фаголізаті λ (*Escherichia coli*) не призводив до серйозних проблем та не вимагав екстенсивного очищення, фаголізат P22 (*Salmonella typhimurium*) виявився летальним для тварин і тому обов'язковим є його очищення перед парентеральним введенням. Вміст токсинів в фагових препаратах можна суттєво (більш ніж в 100 разів) знизити за допомогою центрифугування в градієнті щільності хлориду цезію, мінімізуючи тим самим токсичний вплив на організм та покращуючи терапевтичну ефективність.

Одним із напрямків практичного застосування бактеріофагів є біоконтроль небажаних патогенних мікроорганізмів у харчових продуктах. Ухвалення використання бактеріофагів у якості деконтамінантів поверхні харчових продуктів має за основу факт присутності фагів у високих концентраціях у шлунково-кишковому тракту людини та повсюдно у навколишньому середовищі [4]. Перед випуском у виробництво нового лістерія-специфічного бактеріофага Listex P-100 (компанія EBI, Нідерланди) було проведено дослідження його пероральної токсичності на щурах лінії Wistar згідно з вимогами GLP [40]. Очищений препарат використовували у дозі 5×10^{11} фагових частинок протягом 5 днів (2×10^{12} фагових частинок на кілограм маси тіла відповідно). Результати проведеного дослідження свідчать

про відсутність токсичних ефектів у досліджуваного препарату бактеріофага: загибель тварин та клінічні симптоми інтоксикації не спостерігались, маса тіла і кількість вживаного корму у тварин групи впливу не відрізнялась від цього показника у групі контролю, дані гістоморфологічного дослідження внутрішніх органів не виявили патологічних змін, пов'язаних з досліджуваним бактеріофагом [40].

Дослідження безпеки застосування бактеріофагів у людини. Велика кількість даних, отриманих в дослідженнях ефективності бактеріофаготерапії, починаючи від моменту відкриття бактеріофагів, демонструє відсутність несприятливих ефектів та безпечність фагових препаратів для людини [2, 4, 7, 17, 18, 20]. Так, тільки до 1925 року було оприлюднено біля 150 наукових публікацій, які ґрунтувались на результатах лікування багатьох тисяч людей [7]. Але недосконалість біологічних знань щодо бактеріофагів, під час навіть сумнівів в самому факті їх існування, призвели до плутанини, суперечностей та запеклих дискусій між прихильниками та противниками фаготерапії. Усі існуючі на той момент невизначеності щодо бактеріофаготерапії та поява перших антибіотиків дали можливість деяким вченим вважати хибним цей напрямок фармакотерапії [7]. Широкомасштабне застосування фаготерапії продовжувало існування лише в країнах Східної Європи, проте все ж таки протягом деякого часу в країнах західного регіону мало місце використання фагових препаратів, зокрема у Франції та Швейцарії [7].

У країнах східної частини Європи виробництво бактеріофагів не припинялось, а запровадження їхнього застосування були дослідження ефективності та безпечності для людини [1, 2, 16, 17, 18, 20].

Хоча всі попередні та проведені на Сході дослідження і не відповідали чинним міжнародним нормативним стандартам, висновки про безпечність бактеріофаготерапії підтверджуються постійним впливом на організм людини високих рівнів бактеріофагів у процесі його повсякденної діяльності внаслідок їхньої широкої присутності в довкіллі [4].

Відновлення інтересу до фаготерапії в західних країнах супроводжується проведенням досліджень щодо безпеки застосування у людини (згідно з діючим міжнародним законодавством) протягом останніх десяти років. Вони включають широкомасштабні випробування безпеки лізату Staphage, виконані в Delmont Laboratories (США) (A. Sulakvelidze and P. Barrow, 2005). Цей препарат, який містить високі концентрації антистафілококових бактеріофагів, вводили людині інтраназально, місцево, перорально, підшкірно і внут-

рішньювенно. За роки використання в організмі людини спостерігалися лише незначні побічні ефекти.

За даними дослідження, проведеного на базі науково-дослідного центру Nestle (Швейцарія), при введенні бактеріофагів кишкової палички людям-добровольцям загрози безпеки не виявлено [4].

У 2008 році за ініціативою компанії Intralytix Inc. (США) було завершено I фазу клінічних випробувань препарату бактеріофагів (містить вісім фагів, дія яких спрямована на *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* та *Escherichia coli*), у яких продемонстровано безпечність досліджуваного препарату при лікуванні венозних виразок [16, 17]. Також у 2008 році завершено I/II фазу клінічних досліджень, що довели ефективність та безпечність препарату BioPhage-PA (Biocontrol Limited, Велика Британія/США) у лікуванні хронічних отитів, що викликані антибіотикорезистентними штамми *Pseudomonas aeruginosa*, після чого у березні 2009 року компанія отримала дозвіл FDA на проведення III фази клінічних випробувань [16, 17, 41]. У серпні 2009 року корпорацією Nestle Nutrition (Швейцарія) були ініційовані клінічні дослідження з вивчення безпечності та ефективності застосування бактеріофага *Escherichia coli* в терапії кишкових інфекцій у дітей віком від 6 до 60 місяців [20].

Висновки. Незважаючи на те, що бактеріофаги вже понад 90 років використовуються в якості антибактеріальних засобів, їх застосування у міжнародному масштабі обмежено у зв'язку з недостатнім вивченням взаємодії

живих систем, характеру імунної відповіді організму на фагові частки та ролі органів ретикуло-ендотеліальної системи у видаленні фагових частинок з судинного русла, а також у зв'язку з наявністю токсинів у недостатньо очищених фаголізатах та недосконалістю методів очищення препаратів бактеріофагів від токсинів та інших супутніх речовин з необхідністю розробки методів ізоляції фагів-мутантів, здатних уникати захоплення ретикуло-ендотеліальною системою.

Ефективне використання бактеріофагів в усіх можливих сферах і в першу чергу в медицині має бути аргументоване детальним розумінням їх природи і особливостей взаємодії з бактерією-хазяїном, для чого має бути залучений весь потенціал сучасної дослідницької галузі (включаючи молекулярну біологію, генну та білкову інженерію), високою якістю виробництва препаратів бактеріофагів, належними доклінічними і клінічними випробуваннями, що підтверджують відсутність токсичних властивостей та безпечність препаратів бактеріофагів відповідно до сучасних регуляторних стандартів.

Науковообґрунтована відповідь на існуючі питання щодо ефективності і безпечності бактеріофагів для людини, систематизація вже наявних даних і аналіз результатів нових досліджень, дотримання багатьох вимог, встановлених сучасною фармакологічною індустрією, дозволить отримати схвалення відповідних компетентних органів, надасть застосуванню бактеріофагів широкомасштабність та сприятиме вирішенню актуальних проблем, що постають перед сучасною охороною здоров'я.

ЛІТЕРАТУРА

1. Перспективи використання діагностичних та лікувальних препаратів бактеріофагів у медицині / О.С. Воронкова, О.А. Сірокваша, Т.М. Полішко, А.І. Вінніков // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, медицина. – 2012. – Вип. 3, Т. 2. – С. 26–31.
2. Лікувально-профілактичні препарати бактеріофагів / Є. Воробей, О. Воронкова, О. Сірокваша, А. Вінніков. // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2014. – Вип. 64. – С. 52–66.
3. Inal J.M. Phage Therapy: a Reappraisal of Bacteriophages as Antibiotics / J.M. Inal // Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis. – 2003(51). – P. 237–244.
4. Bacteriophage applications: where are we now? / A.B. Monk, C.D. Rees, P. Barrow [et al.] // The Society for Applied Microbiology, Letters in Applied Microbiology. – 2010(51). – P. 363–369.
5. Chhibber Sanjay. Application of Therapeutic Phages in Medicine / Sanjay Chhibber, Seema Kumari // Bacteriophages: edited by Ipek Kurtboke. – InTech, 2012. – P. 139–158.
6. Phage treatment of human infections / Stephen T. Abedon, Sarah J. Kuhl, Bob G. Blasdel, Elizabeth Martin Kutter // Bacteriophage. – 2011. – V. 1, Issue 2. – P. 66–85.
7. Harper David R. Bacteriophage therapy: practicability and clinical need meet in the multidrug-resistance era / David R Harper, Sandra Morales // Future Microbiol. – 2012. – V. 7(7). – P. 797–799.
8. Шевченко Т. М. Характеристика чутливості до антибіотиків та фагів штамів стафілококів, що виділені з репродуктивного тракту мишей / Т.М. Шевченко, О.С. Воронкова, А.І.Вінніков. // Патологія. – 2014. – №3 (32). – С.68–72.
9. Бондаренко В.М. Новые горизонты бактериофаготерапии / В.М. Бондаренко // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН (электронный журнал). – 2013. – № 4. – С. 1–12.
10. Skurnik Mikael. Phage therapy: Facts and fiction / Mikael Skurnik, Eckhard Strauch // International Journal of Medical Microbiology. – 2006 (296). – P. 5–14.
11. Дослідження гострої токсичності піни медичної з комплексом бактеріофагів / О.А. Єрещенко, Л.С. Стрельников, О.В. Ткачова, М.М. Ткач // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2010. – Випуск XXIII, № 4. – С.23–24.
12. Phage Therapy: Future Inquiries / Sijia Wu, Elisabeth Zachary, Keenan Wells, Catherine Loc-Carrillo // Journal of Postdoctoral Research. – 2013. – V. 1, N 6. – P. 24–35.
13. Keen Eric C. Phage therapy: concept to cure / Eric C. Keen //

- Frontiers in Microbiology, Antimicrobials, Resistance and Chemotherapy. – 2012. – V. 3. – Article 238. – P.1–3.
14. *Henein A.* What are the Limitations on the Wider Therapeutic use of Phage? [Электронный ресурс] / A. Henein // Bacteriophage. – 2013. – V. 3, Issue 2. – P. e24872-1–e24872-7. – Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3821673/pdf/bact-3-e24872.pdf>.
 15. Антибиотикоустойчивость бактериальных патогенов: эволюционные механизмы и клиническая значимость / Н.К. Фурсова, Н.Н. Карцев, С.В. Ивашов, Э.А. Светоч // Бактериофаги: Теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности: материалы международной научно-практической конференции. – Ульяновск, 2013. – Т. II. – С. 77–82.
 16. *Лыско К.А.* Лечебно-профилактические препараты бактериофагов: краткий обзор / К.А. Лыско, Г.М. Игнатъев, Е.В. Отрашевская // Бактериофаги: Теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности: материалы международной научно-практической конференции. – Ульяновск, 2013. – Т. II. – С. 30–36.
 17. Препараты бактериофагов: краткий обзор современного состояния и перспектив развития / И.В. Красильников, К.А. Лыско, Е.В. Отрашевская, А.К. Лобастова // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – Выпуск 2: Том 26, № 2. – С.33–37.
 18. *Акимкин В.Г.* Бактериофаги: исторические и современные аспекты их применения: опыт и перспективы / В.Г. Акимкин, О.С. Дарбеева, В.Ф. Колков // Клиническая практика. – 2010. – № 4. – С. 48–54.
 19. *Щербенков И.М.* Бактериофаги. Что мы знаем о них? Современные возможности фаготерапии в практике врача-педиатра / И.М. Щербенков // Медицинский совет. – 2013. – № 2. – С. 56–62.
 20. *Бехтерева М.К.* Место бактериофагов в терапии инфекционных заболеваний желудочно-кишечного тракта / М.К. Бехтерева, В.В. Иванова // Педиатрия. – 2014. – № 02. – С.36–40.
 21. *Deresinski Stan.* Bacteriophage Therapy: Exploiting Smaller Fleas / Stan Deresinski // Clinical Infectious Diseases. – 2009; 48. – P.1096–1101.
 22. Пептидогликанлизирующие ферменты бактериофагов – перспективные противобактериальные агенты / К.А. Мирошников, О.В. Чертков, П.А. Назаров, В.В. Мяснинов // Успехи биологической химии. – 2006. – Т. 46. – С. 65–98.
 23. *Sulakvelidze A.* Bacteriophage Therapy / A. Sulakvelidze, Z. Alavidze, J. Glenn Morris // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2001. – V. 45, No. 3. – P. 649–659.
 24. T4 phages against Escherichia coli diarrhea: Potential and problems / Emmanuel Denou, Anne Bruttin, Caroline Barretto [et al.] // Virology. – 2009. – V. 388, Issue 1. – P. 21–30.
 25. *Мидленко В.И.* Чувствительность к препаратам бактериофагов возбудителей осложнений у больных после травм и оперативных вмешательств на опорно-двигательном аппарате / В.И. Мидленко, Г.А. Шевалаев, И.М. Ефремов // Фундаментальные исследования. – 2013. – №9. – С. 871–874.
 26. *Calendar R.* The bacteriophages, Second Edition / R. Calendar. – New York: Oxford University Press, 2005. – 746 p.
 27. *Парфенюк Р.Л.* Микробиологические основы пероральной фаготерапии гнойно-воспалительных заболеваний: дис. ... кандидата биол. наук : 03.00.07 / Р.Л. Парфенюк. – Москва, 2004. – 101 с.
 28. *Vaks Lilach.* In vivo characteristics of targeted drug-carrying filamentous bacteriophage nanomedicines [Электронный ресурс] / Lilach Vaks, Itai Benhar // Journal of Nanobiotechnology. – 2011, 9:58. – Режим доступа: <http://www.jnanobiotechnology.com/content/9/1/58>.
 29. *Kutter Elizabeth.* Bacteriophages: Biology and Applications / Elizabeth Kutter, Alexander Sulakvelidze // CRC Press, 2004. – 528 p.
 30. Bacteriophage penetration in vertebrates / K. Dabrowska, K. Switala-Jelen, A. Opolski [et al.] // Journal of Applied Microbiology. – 2005. – V. 98, Issue 1. – P. 7–13.
 31. *Ковязина Н.А.* Разработка и стандартизация таблеток Ковстафаг®: автореф. дис. на соискание уч. степени канд. фарм. наук : спец. 15.00.01 “Технология лекарств и организация фармацевтического дела” / Наталья Анатольевна Ковязина. – Пермь, 2009. – 24 с.
 32. *Козлова Ю.Н.* Специфический бактериофаг для лечения хирургической инфекции, вызванной Pseudomonas aeruginosa, в эксперименте / Ю.Н. Козлова, В.Е. Репин, И.В. Майбородин // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2013. – Т. VI, № 4. – С. 425–431.
 33. *Козлова Ю.Н.* Строение печени, селезенки и лимфатических узлов при введении специфического бактериофага для коррекции пневмонии, вызванной Pseudomonas aeruginosa : дис. ... кандидата биол. наук : 03.03.04 / Юлия Николаевна Козлова. – Новосибирск, 2014. – 185 с.
 34. *Шитова О.И.* Биотехнологические аспекты производства препаратов сальмонеллезного бактериофага : автореф. дис. на соискание уч. степени канд. фарм. наук : спец. 14.04.01 “Технология получения лекарств” / Ольга Ивановна Шитова. – Пермь, 2013. – 25 с.
 35. Дослідження гострої токсичності гелю з бактериофагом стафілококковим / Л.С. Стрельников, М.М. Ткач, О.П. Стрілець [та ін.] // Український біофармацевтичний журнал. – 2011. – № 3(14). – С. 59–61.
 36. Доклінічні дослідження лікарських засобів / О.В. Стефанов, Н.В. Літвінова, М.А. Філоненко-Патрушева [та ін.] // – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.
 37. Результаты доклинического изучения хронической токсичности на неполовозрелых животных бактериофага энтеробактер / Д.С. Бушменков, Т.В. Данилина, Т.В. Карасева [и др.] // Журнал инфектологии. Приложение. – 2011. – Т. 3, № 3. – С. 35–36.
 38. *Алферова Э. В.* Биологические свойства бактериофагов Enterobacter и разработка научных основ технологии получения препарата бактериофагов: дис. ... кандидата биол. наук : 03.00.07 / Элина Вячеславовна Алферова. – Уфа, 1995. – 120 с.
 39. Long-circulating bacteriophage as antibacterial agents / Carl R. Merrill, Biswajit Biswas, Richard Carlton [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1996. – V. 93. – P. 3188–3192.
 40. Bacteriophage P100 for control of Listeria monocytogenes in foods: Genome sequence, bioinformatic analyses, oral toxicity study, and application / R.M. Carlton, W.H. Noordman, B. Biswas [et al.] // Regulatory Toxicology and Pharmacology. – 2005. – V. 43, Issue 3. – P. 301–312.
 41. A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant Pseudomonas aeruginosa; a preliminary report of efficacy / A. Wright, C.H. Hawkins, E.E. Anggard, D.R. Harper // Clinical Otolaryngology. – 2009. – V. 34, Issue 4. – P. 349–357.

БАКТЕРИОФАГИ: АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ БЕЗОПАСНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

(обзор литературы)

П.Г. Жминько, Е.В. Федченко, М.Л. Зиновьева

РЕЗЮМЕ. В обзорной статье обобщены данные литературы относительно практики применения бактериофагов, изложено современное представление об их природе и принципах действия, обозначены свойства бактериофагов, дающие им преимущества перед традиционными антибактериальными средствами, сформулированы обязательные предпосылки применения фаготерапии. Приведены данные исследований фармакокинетики, токсикологических свойств на животных и безопасности применения бактериофагов у человека. Уделяется внимание вопросам усовершенствования методов очистки фаговых препаратов, приводится экспериментальное сравнение острой и хронической токсичности очищенных и неочищенных фаголизатов. Подчеркивается, что систематизация существующих данных и анализ результатов новых исследований, соблюдение требований, установленных современной фармакологической индустрией, позволит получить одобрение соответствующих компетентных органов, придаст применению бактериофагов широкомасштабность и будет способствовать решению проблемы антибиотикорезистентности, стоящей перед современным здравоохранением.

Ключевые слова: бактериофаги, антибиотикорезистентность, фаготерапия, токсичность, безопасность.

BACTERIOPHAGES: RELEVANT QUESTIONS OF SAFE APPLICATION

(literature review)

P. Zhminko, O. Fedchenko, M. Zinovieva

SUMMARY. In the review article, the literature data on the practical use of bacteriophages are summarized, the modern concept of their nature and mode of action are outlined. Also, properties of bacteriophages that give them advantages over conventional antibacterial agents are identified, the preconditions of phage therapy application are formulated. The data of pharmacokinetic and animal toxicity studies and the human safety trials findings are described. Some attention is given to the improvement of purification methods of phage preparations, experimental comparison of the acute and chronic toxicity of purified and crude phage lysate is provided. It is highlighted that the systematization of existing data and analysis of future research results, compliance with the requirements of modern pharmaceutical industry will provide the approval of the competent authorities, whereupon this will make possible widespread application of bacteriophage and will help to solve the healthcare problem of antibiotic resistance.

Key words: bacteriophages, antibiotic resistance, phage therapy, toxicity, safety.

Надійшла до редакції 03.08.2015 р.