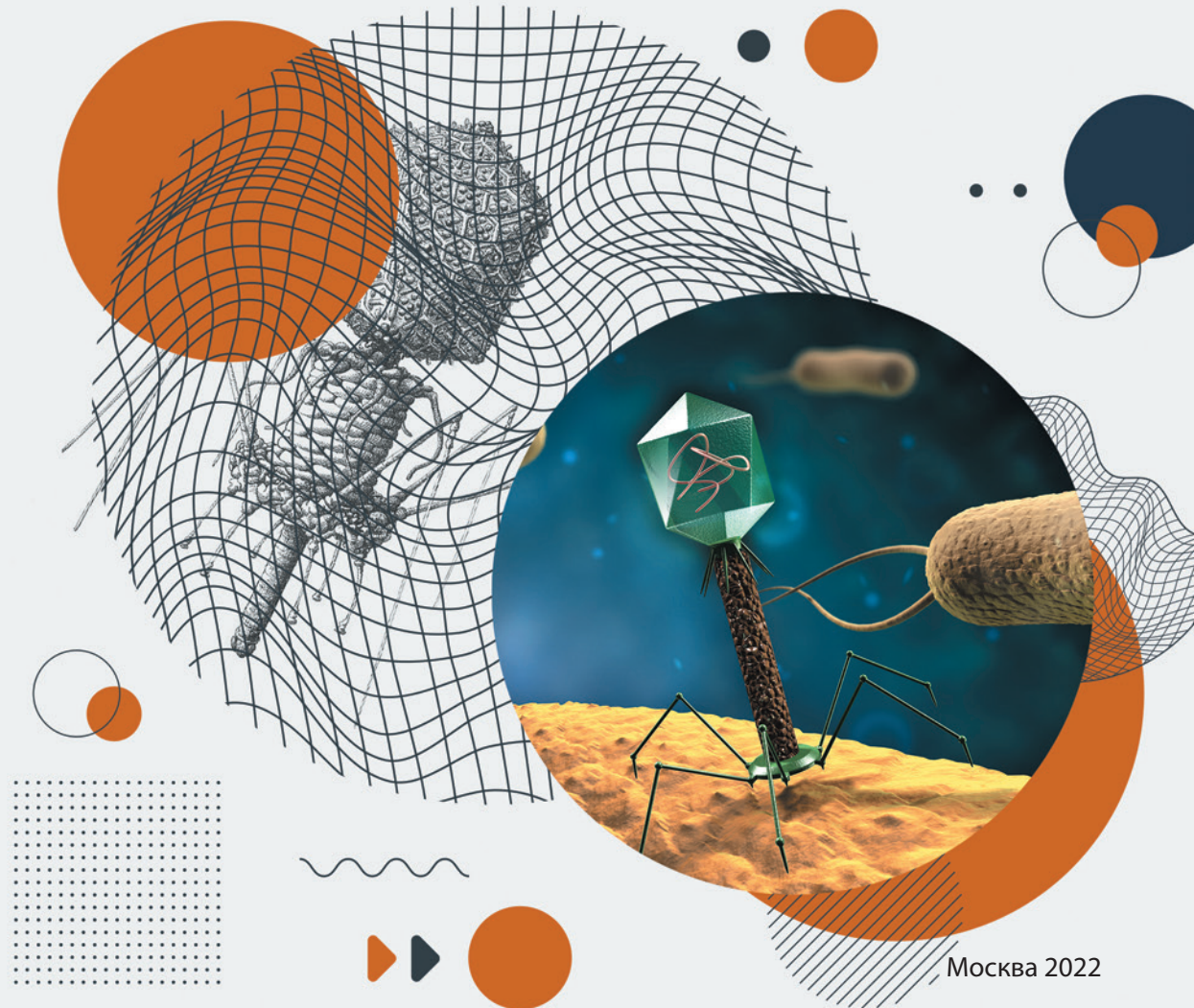


А.В. Зайцев, А.Ю. Зурабов, А.В. Говоров, А.О. Васильев,  
О.А. Арефьева, Ф.М. Зурабов, М.М. Гуркова, Д.Ю. Пушкарь

# БАКТЕРИОФАГИ В УРОЛОГИИ

Методические рекомендации № 9



ISBN 978-5-6046462-8-1



9 785604 646281

Москва 2022

ПРАВИТЕЛЬСТВО МОСКВЫ  
ДЕПАРТАМЕНТ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГОРОДА МОСКВЫ

СОГЛАСОВАНО

Главный внештатный  
специалист -уролог  
Департамента здравоохранения  
города Москвы  
д.м.н., профессор Д.Ю. Пушкарь

  
«03» марта 2022 года

РЕКОМЕНДОВАНО

Экспертным советом по науке  
Департамента здравоохранения  
города Москвы № 4



«6» апреля 2022 года

**Бактериофаги в урологии**

Методические рекомендации № 9

УДК 616.6-08:579.61

ББК 56.9+52.64

Б 197

К 16 Бактериофаги в урологии: методические рекомендации / Сост. А.В. Зайцев, А.Ю. Зурабов, А.В. Говоров, А.О. Васильев, О.А. Арсеньева, Ф.М. Зурабов, М.М. Гуркова, Д.Ю. Пушкарь. – М.: АБВ-пресс, 2022. – 48 с.

**Учреждения-разработчики:** Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница имени С.И. Спасокукоцкого Департамента здравоохранения города Москвы», Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Научно-производственный центр «Микромир».

**Составители:** д.м.н., профессор Зайцев Андрей Владимирович; генеральный директор НПЦ «Микромир» Зурабов Александр Юрьевич; д.м.н., профессор Говоров Александр Викторович; канд. мед. наук Васильев Александр Олегович; канд. мед. наук Арсеньева Оксана Анатольевна; магистр биологических наук Зурабов Федор Михайлович; заместитель генерального директора НПЦ «Микромир» Гуркова Марина Михайловна; д.м.н., профессор, академик РАН Пушкарь Дмитрий Юрьевич.

#### **Рецензенты:**

*Лоран О.Б.*, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой урологии и хирургической андрологии ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ;

*Котов С.В.*, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой, руководитель университетской клиники урологии ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ.

В методических рекомендациях изложены аспекты применения бактериофагов в урологической практике.

Данные методические рекомендации предназначены для врачей-урологов, врачей смежных специальностей, аспирантов и ординаторов, обучающихся по специальности «урология», студентов медицинских вузов старших курсов.

**Данный документ является собственностью Департамента здравоохранения города Москвы и не подлежит тиражированию и распространению без ответственного разрешения.**

Авторы несут персональную ответственность за данные, представленные в методических рекомендациях.

УДК 616.6-08:579.61

ББК 56.9+52.64

ISBN 978-5-6046462-8-1



9 785604 646281

© Коллектив авторов, 2022

© Издательский дом «АБВ-пресс», 2022

# БАКТЕРИОФАГИ В УРОЛОГИИ

Методические рекомендации № 9

Москва 2022

# Содержание

Список сокращений .....	5
Введение .....	7
История бактериофагов .....	9
Таксономия и жизненный цикл бактериофагов .....	10
Микробиом мочевого пузыря .....	14
Ограничения использования бактериофагов .....	18
Антибиотикорезистентность .....	21
Бактериофаги и биопленки .....	24
Опыт клинического применения бактериофагов в урологии .....	29
Перспективы дальнейшего развития .....	37
Заключение .....	39
Рекомендуемая литература .....	41

# Список сокращений

ACSS	Acute Cystitis Symptom Score – шкала оценки симптомов острого цистита
CRISPR	Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats – сгруппированные регулярно чередующиеся короткие палиндромные повторы
CRISPR/ Cas	Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats Associated System – сгруппированные регулярно чередующиеся короткие палиндромные повторы и ассоциированная с ними система
PUF	Pelvic Pain and Urgency/Frequency Patient Symptom Scale – шкала оценки пациентами тазовой боли и urgency/частоты мочеиспускания
VAS	Visual Analogue Scale – визуальная аналоговая шкала
АБТ	антибактериальная терапия
БОЕ	бляшкообразующая единица
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения
ГАМП	гиперактивный мочевой пузырь
ГМО	генетически модифицированные организмы
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ИМП	инфекции мочевыводящих путей
ИЦ	интерстициальный цистит
КОЕ	колониеобразующая единица
МКБ	мочекаменная болезнь
МКБ-10	Международная классификация болезней 10-го пересмотра
МЛУ	множественная лекарственная устойчивость
НМ	недержание мочи
ПЦР	полимеразная цепная реакция
РМП	рак мочевого пузыря
РПЖ	рак предстательной железы
рРНК	рибосомная рибонуклеиновая кислота
СБМП	синдром боли в мочевом пузыре
СХТБ	синдром хронической тазовой боли
ТУРП	трансуретральная резекция простаты
ХП	хронический простатит



# Введение

Открытие антибактериальных препаратов и их дальнейшая коммерциализация обеспечили поистине революционный прорыв в терапии инфекционных заболеваний, позволив снизить заболеваемость и смертность среди населения. Негативным последствием бесконтрольного использования антибактериальных препаратов стал так называемый феномен «параллельного ущерба», характеризующийся селекцией полирезистентных микроорганизмов, причем не только среди штаммов возбудителей, на которые была направлена антибактериальная терапия (АБТ), но и среди бактерий, не являвшихся этиологически значимыми в данной клинической ситуации. По некоторым прогнозам, потери мирового валового внутреннего продукта, ассоциированные с антибиотикорезистентностью, к 2050 г. составят около 100 трлн долл. США, а летальность может достичь уровня 10 млн чел. в год [1, 2]. Проблема устойчивости к антибиотикам уже давно вышла за границы стационаров, и в последние два десятилетия выявление резистентных возбудителей у пациентов с внебольничными инфекциями уже считается «нормальным» явлением. В отчете Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) о глобальной эпидемиологической обстановке антибактериальная резистентность названа одной из трех главных угроз для общественного здравоохранения в XXI в. [3]. Ситуация усугубляется нехваткой надежных и современных антибактериальных препаратов, что со временем приводит к появлению модифицированных бактерий, не поддающихся лечению.

В современной клинической практике наличие резистентных к антимикробным препаратам штаммов бактерий представляет значительную проблему при проведении метафилактики различных инфекционно-воспалительных заболеваний органов мочевыделительной системы. Недостаточная эффективность АБТ обуславливает поиск альтернативных методов лечения и профилактики инфекционных заболеваний. Одним из таких методов является применение вирулентных бактериальных вирусов (бактериофагов). Обзор публикаций последних лет свидетельствует о значительном увеличении интереса к фаготерапии бактериальных инфекций [4].

В 1921 г. была опубликована первая работа по возможности клинического применения бактериофагов в лечении инфекционных заболеваний кожи, вызванных бактериями семейства *Staphylococcaceae* [5]. С момента эмпирического определения эффективной дозировки фага ряд фармацевтических компаний, таких как Parke-Davis и Eli Lilly and Company, начали активное коммерческое производство бактериофагов. После открытия первого антибиотика и начала эры антибиотикотерапии применение фагов отошло на второй план. И лишь спустя несколько десятилетий медицинское сообщество, столкнувшись с проблемой антибиотикорезистентности и поиска



альтернативных препаратов, обратило внимание на успешные методы борьбы с инфекциями – фагопрофилактику и фаготерапию [6].

Среди способов лечения бактериальных инфекций, вызванных микроорганизмами с множественной антибактериальной устойчивостью, применение бактериофагов вновь стали рассматривать как перспективный метод терапии. Кроме того, бактериофаги широко используются при производстве вакцин и лекарственных препаратов с целью обнаружения бактерий и их последующего типирования. Высокая эффективность и безопасность фаговой терапии по сравнению с антибиотиками обусловлена их специфичностью и способностью инфицировать только один вид, серотип или штамм бактерий. Применение комплексов на основе бактериофагов позволяет четко конструировать состав таким образом, чтобы антибактериальное действие не сопровождалось уничтожением комменсальной бактериальной флоры, что значительно расширяет перечень клинических показаний к фаготерапии. Современные препараты состоят из фаговых коктейлей, включающих в себя фаги, специфичные в отношении наиболее распространенных возбудителей инфекций одной нозологии или определенного локуса. Разрабатываются и перспективные составы коктейлей, содержащие основные виды антибиотикорезистентных возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи [7]. Данные коктейли при наличии коллекций бактериофагов можно расширять и дополнять, модифицируя под потребность определенного пациента или лечебного учреждения.

В данных методических рекомендациях освещены общие вопросы фаготерапии, механизма действия фагов, а также возможности и ограничения применения бактериофагов в лечении и профилактике инфекционных заболеваний органов мочевыделительной системы.

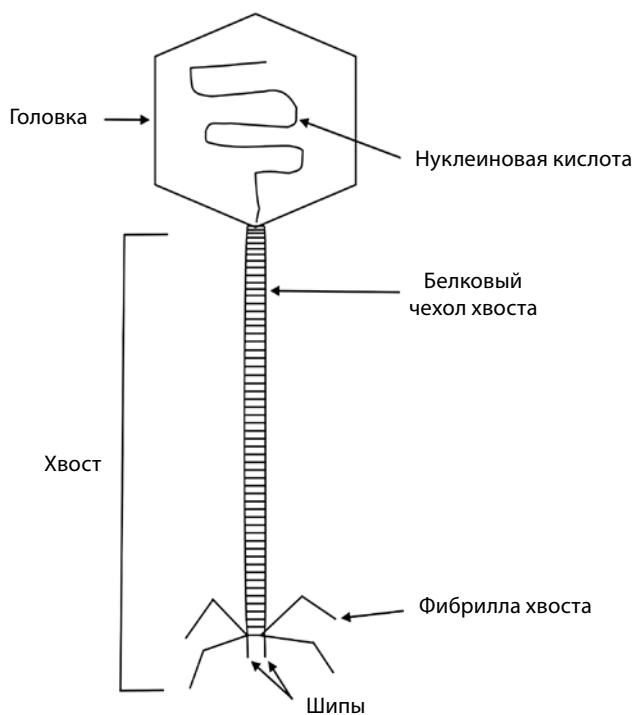
# История бактериофагов

В 1896 г. британский бактериолог Эрнест Ханкин сообщил об уникальной активности против холерного вибриона, которую он наблюдал в реках Ганг и Джамна в Индии, и предположил, что за это явление отвечает неустановленное вещество или микроорганизм. Двумя годами позже аналогичный феномен наблюдал русский бактериолог Н.Ф. Гамалея, работая с *Bacillus subtilis*. С 1898 по 1918 г. другие специалисты также наблюдали аналогичный феномен. Однако только в 1914 г. британский бактериолог Фредерик Туорт выдвинул гипотезу, предположив, что это могло быть связано с «определенным вирусом». По разным причинам, в том числе и из-за финансовых трудностей, Ф. Туорт не стал продолжать дальнейшие исследования и развивать свою теорию [8].

Французско-канадский микробиолог Феликс д'Эрель впервые наблюдал ранее описанный феномен в 1910 г. при изучении методов борьбы с саранчой в Аргентине. Шесть лет спустя он предложил название «бактериофаг», или «пожиратель бактерий», а уже в 1917 г. Ф. д'Эрель начал проводить первые в истории клинические испытания. Под руководством профессора Виктора-Анри Ютинеля в Hôpital des Enfants-Malades в Париже д'Эрель продемонстрировал безопасность фагов, приняв их внутрь. Спустя некоторое время д'Эрель подтвердил эффективность фагов, введя их 12-летнему мальчику с тяжелой формой дизентерии: симптомы у юного пациента прекратились после однократного введения, и он полностью излечился. Чуть позже антидизентерийный фаг был введен еще трем пациентам. Результатом стало полное выздоровление больных в течение следующих суток [9]. В 1923 г. два врача из Медицинского колледжа Бейлора сообщили об успешных результатах одного из испытаний фаговой терапии. В ходе проведенного исследования авторы пришли к выводу, что «бактериофаг обладает огромными возможностями в качестве нового оружия для борьбы с инфекционными заболеваниями» [10].

# Таксономия и жизненный цикл бактериофагов

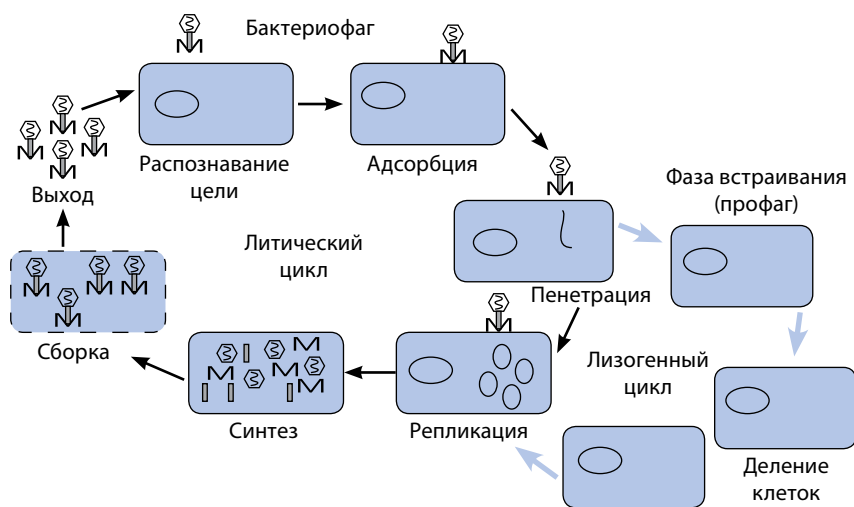
Бактериофаги – наиболее распространенные формы жизни на Земле, подавляющее большинство из которых (около 96 %) относится к *Myoviridae*, *Podoviridae* и *Siphoviridae*. Фундаментальной характеристикой фагов является наличие одного типа нуклеиновой кислоты в качестве носителя генетической информации и капсида, состоящего из структурных белков. Большинство известных бактериофагов имеют геном, состоящий из двухцепочечной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) (рис. 1). Бактериофаги связаны с определенным бактериальным штаммом и проявляют бактерицидную активность в отношении различных грамположительных и грамотрицательных бактерий. Некоторые фаги проявляют тропность к отдельным штаммам



**Рис. 1.** Схематическое изображение бактериофага

и серотипам бактерий, в то время как другие обладают широким спектром внутривидовой активности, а их специфичность определяется наличием специальных рецепторов, расположенных на поверхности бактериальных клеток. Бактериофагам присущи два типа активности против бактериальной клетки: литическая активность, которая характерна для вирулентных фагов (приводящая к разрушению бактериальной клетки), и лизогенная активность, включающая интеграцию генетического материала бактериофага с бактериальной хромосомой и репликацию в составе бактериальной ДНК, что приводит к появлению профага (без причинения вреда бактериальной клетке) [11]. Различают 6 типов морфологии фагов.

Первый контакт между фагом и бактериальной клеткой происходит путем случайного столкновения при условии, что на поверхности клетки есть специфические рецепторы. Как правило, контакт осуществляется между рецепторными молекулами хозяина (например, тейхоевой кислотой в грамположительных или липополисахаридом в грамотрицательных бактериях) и специфическими белками фага, расположенными на кончике хвостового волокна или на одном конце нитчатого фага. Проникновение фаговой ДНК внутрь клетки происходит сразу после того, как фаг стабильно и необратимо адсорбируется на клеточной поверхности (рис. 2). На начальном этапе инфекционного процесса в системе «фаг–клетка» бактериальный вирус адсорбируется на рецепторах внешней мембраны клетки и при выходе из клетки фагового потомства происходит лизис бактерии. Вышедшие из клетки новые фаговые



**Рис. 2.** Механизм действия бактериофагов во время литического и лизогенного жизненных циклов

частицы поражают следующие бактериальные клетки, снижая титр до клинически незначимого. Бактериофаги способны проходить через клетки (транскитоз) безо всякого вреда для эукариотических клеток. Наиболее активный лизис бактериальных клеток происходит в период быстрого размножения последних (в фазе логарифмического роста) [12].

Перенос генов от одного бактериального штамма к другому посредством бактериофага называется трансдукцией и может происходить генерализованно или специализированно. В дополнение к обмену генетической информацией бактериофаги могут изменять микробные популяции, являясь тропными к определенным видам бактерий, оставляя другие бактерии неизменными [11, 13].

Основные отличия антибиотиков от бактериофагов отображены в таблице 1.

**Таблица 1.** Принципиальные отличия антибиотиков от бактериофагов

<b>Параметры</b>	<b>Антибиотики</b>	<b>Бактериофаги</b>
Частота развития вторичной резистентности	От незначительной до очень высокой	Не характерно
Профилактическое использование	Неэффективно, противопоказано	Широко используется
Длительность создания нового препарата	От нескольких лет до десятилетий	От нескольких дней до нескольких месяцев
Способность проникать в различные ткани	От высокой до крайне низкой для различных препаратов	Крайне высокая
Концентрация в инфекционном очаге	Отличается для разных препаратов, зависит от локализации процесса, скорость снижения различна	Нарастает путем саморазмножения, снижается после ликвидации инфекции
Влияние на ферментные системы организма	Характерно для всех препаратов	Не описано

Наличие побочных эффектов и осложнений	Аллергические, токсические, конкурентные (в отношении прочих медикаментов), дисбиотические изменения различных органов, в том числе тяжелые (псевдомембранозный колит, ассоциированный с <i>Clostridium difficile</i> )	Не характерно. Иногда может наблюдаться кратковременный подъем температуры, вызываемый, по-видимому, массивным разрушением клеточных мембран
Рациональная комбинация с другими антибактериальными препаратами	Зависит от класса антибактериальных средств и может быть назначена по типу суммирования, потенцирования и т. д., в зависимости от точек приложения воздействия препарата на бактериальную клетку	Всегда по типу взаимного потенцирования, по предварительным данным – вне зависимости от класса препарата
Совместимость с другими медикаментами	Различная (конкуренция за ферментные системы, связывание с тканями, усиление токсических эффектов и пр.)	Полная, в том числе и с антибиотиками
Активность в отношении патогенных микробов	Различная. Подавляют облигатную флору организма, вызывая дисбиотические нарушения. Число чувствительных штаммов составляет 60–90 %	Число чувствительных штаммов составляет 70–90 %. Не влияют на облигатную флору организма, не вызывают дисбиоз

# Микробиом мочевого пузыря

Микробиом – совокупность микроорганизмов, населяющих конкретную экосистему. Метагеномные исследования, основанные на идентификации членов микробного сообщества, положили основу изучения микробиома кожи, молочной железы, половых органов, легких, слизистых оболочек, биологических жидкостей, а также желудочно-кишечного тракта. Состав микробиома человека различается между частями тела, органами и системами организма, но в целом состав микробиома относительно сбалансирован, а микробное сообщество – постоянно [14].

Для подтверждения роли микробиома в ряду патогномичных признаков развития заболеваний научным сообществом были проведены многочисленные исследования. Идентификацию микроорганизмов, как правило, проводят с использованием видовой специфичности 16S рибосомной рибонуклеиновой кислоты (рРНК). Для этого микроорганизмы сначала выделяют, а затем массово выращивают и идентифицируют с помощью культивируемых колоний 16S рРНК. Однако количество существующих в природе микроорганизмов, которые можно вырастить *in vitro* ограничено. Учитывая данные ограничения, было предпринято множество попыток изучить микроорганизмы, не полагаясь на культуру микроорганизмов, следствием чего стало внедрение секвенирования [15].

Стремительное развитие секвенирования позволило получить информацию о последовательности генов в микробиоме, в результате чего у пациентов без инфекций мочевыводящих путей были обнаружены бактерии в моче. Дальнейший анализ позволил положить конец установленной догме о том, что «моча стерильна» [16, 17]. Так, например, бактериологический анализ, считавшийся до недавнего времени «золотым стандартом» диагностики, уступает по эффективности выявления таких видов медленно растущих или анаэробных патогенов, как *Corynebacterium* или *Ureaplasma*. Учитывая разработки в области секвенирования 16S рРНК и усовершенствования в области культуральных методов исследования мочи, разнообразие микробного сообщества мочи может быть идентифицировано практически у каждого человека. Более того, культуральные методы исследования позволяют выделить до 80 % всех бактерий из образцов, в которых бактерии не растут на стандартной культуре [18, 19].

Проект «Микробиом человека» был запущен в 2007 г. для определения характеристики микробиома человека и анализа его роли в поддержании здоровья и развитии заболеваний. Первоначально проект был сосредоточен на идентификации микроорганизмов в желудочно-кишечном тракте, ротовой полости, носоглотке, коже и влагалище, за исключением мочевыводящих путей, поскольку, как уже было отмечено

ранее, считалось, что моча стерильна [20]. Геномное секвенирование доказало, что микробный состав мочи меняется при урологических заболеваниях. В настоящий момент накоплены данные о влиянии микробиоты мочи на риск развития рака предстательной железы (РПЖ) и рака мочевого пузыря (РМП), хронического простатита (ХП), синдрома хронической тазовой боли (СХТБ), синдрома боли в мочевом пузыре/интерстициального цистита (СБМП/ИЦ), недержания мочи (НМ), синдрома гиперактивного мочевого пузыря (ГАМП), мочекаменной болезни (МКБ) и инфекций мочевыводящих путей (ИМП).

Многие инфекционные агенты могут действовать как кофакторы канцерогенеза, вызывая хронические воспалительные реакции. Некоторые комменсальные штаммы бактерий могут также контролировать рост патогенных бактерий. Данное утверждение коррелирует с данными многих авторов о том, что микробиота может индуцировать иммунный ответ и, как следствие, быть вовлечена в регуляцию патогенной инфекции и возможность развития злокачественного новообразования. Известно, что многие микроорганизмы, такие как условно-патогенные эндогенные энтеробактерии *Escherichia coli* и *Pseudomonas* spp. и патогенные микроорганизмы, передающиеся половым путем (например, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* и *Trichomonas vaginalis*) инфицируют предстательную железу, вызывая тем самым воспалительные реакции [21]. По мнению M. Puhg et al., главная роль в возникновении РПЖ отводится непосредственно воспалительному процессу и воздействию таких цитокинов, как интерлейкины 6 и 8 [22].

Бактериальные частицы модулируют риск развития РМП за счет катаболизма и анаболизма таких канцерогенных химических веществ, как нитрозамины и ацетальдегид [23]. Остается неясным, влияет ли микробиота мочи на развитие или прогрессирование РМП, равно как не доказано, влияет ли наличие РМП на состав, разнообразие и обилие микроорганизмов в моче. Некоторые исследования показали, что микробиота мочевого пузыря может изменять внеклеточный матрикс, стимулирующий или ингибирующий уротелиальный канцерогенез. Кроме того, доказано, что бактериальная инвазия в ткани приводит к воспалению, которое дополнительно поддерживает ремоделирование внеклеточного матрикса и продукцию свободных радикалов, что приводит к мутациям, вызывающим повреждение ДНК, а также к развитию и рецидиву РМП [24, 25]. Существует хорошо документированная связь между хронической инфекцией мочевого пузыря бактерией *Schistosoma haematobium* и плоскоклеточным РМП. Однако механизм, ответственный за эту ассоциацию, четко не определен [26]. Ранние исследования показали, что развитие опухоли мочевого пузыря было вызвано N-нитрозаминами, полиароматическими углеводородами, свободными радикалами и микробами [27]. Предполагая, что микробиота в мочевыводящих путях может помочь в лечении рака, ряд авторов считают, что пероральный прием



*Lactobacillus casei* снижает рецидив поверхностного РМП, а также предотвращает производство канцерогенов и мутагенов кишечными бактериями и выделение мутагенов с мочой [28, 29].

Влияние микробиома мочи на риск развития ХП и СХТБ до конца не ясен. В нескольких исследованиях сравнивали разнообразие микробиоты мочи и кишечной микрофлоры у пациентов с ХП/СХТБ и контрольной группой. Shoskes D.A. et al. проанализировали микробиоту мочи у пациентов при помощи секвенирования 16S рРНК и обнаружили, что бактериальное разнообразие было выше в группе ХП/СХТБ ( $n = 25$ ), чем в контрольной группе ( $n = 25$ ). Количество бактерий рода *Clostridia* и *Bacteroides*, а также анаэробных бактерий было значительно выше в группе ХП/СХТБ, чем в контрольной группе [30]. В другом своем исследовании авторы показали, что разнообразие кишечной микробиоты было низким у пациентов с ХП/СХТБ, распределение отличалось от такового в контрольной группе, а сниженное количество бактерий рода *Prevotella* с противовоспалительным действием может служить биомаркером для выявления у пациентов ХП/СХТБ [31].

У пациентов с СБМП/ИЦ наблюдается снижение микробного разнообразия, а количество лактобактерий значительно повышено у 90 % пациентов по сравнению с 60 % в контрольной группе [32].

Fok C.S. et al. в своем исследовании доказали, что бактерии рода *Atopobium vaginae* и *Finegoldia magna* коррелируют со степенью тяжести симптомов у пациенток со стрессовым недержанием мочи/пролапсом тазовых органов и считаются факторами, влияющими на симптомы ГАМП [33]. Несколько исследований, в которых сравнивали микробный состав мочи пациенток с НМ и здоровых людей, выявили значительные различия в бактериальном составе мочи, влияющем на тяжесть симптомов. По сравнению с контрольной группой пациентки с НМ имеют большее число бактерий рода *Gardnerella* и меньшее количество *Lactobacillus* spp. Кроме того, в образцах мочи пациенток с НМ были обнаружены девять родов бактерий (*Actinobaculum*, *Actinomyces*, *Aerococcus*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Gardnerella*, *Oligella*, *Staphylococcus* и *Streptococcus*) [34, 35]. Thomas-White K.J. et al. сообщили, что микробиота мочи была более разнообразна у пациенток с высоким индексом массы тела, и это разнообразие было связано с низким уровнем содержания *Lactobacillus* у женщин в постменопаузальном периоде, не принимающих гормональную терапию [36].

Роль микроорганизмов в образовании конкрементов в органах мочевыделительной системы установлена. Известно, что микроорганизмы, расщепляющие мочевины, такие как *Proteus mirabilis* и *Ureaplasma urealyticum*, повышают pH мочи, что приводит к кристаллизации кальция, магния и фосфатов в моче и образованию струвитных (инфицированных) камней. Stern J.M. et al. в своем исследовании изучили различия и характеристики микробиоты кишечника у пациентов с МКБ [37]. У пациентов

с камнями в почках был более высокий уровень *Bacteroides* и меньше *Prevotella*, чем в контрольной группе [38].

В недавних исследованиях сообщалось о важной роли микробиоты влагалища, мочи и кишечника в регуляции активности ИМП [39]. Комменсальные бактерии могут превосходить патогены и выступать в качестве барьера для уропатогенов за счет высвобождения ингибирующих или бактерицидных молекул. Лактобациллы, входящие в состав микробиоты мочи, могут предотвращать адгезию, рост и колонизацию уропатогенных бактерий. Некоторые виды *Lactobacillus* также продуцируют антибактериальные метаболиты, в том числе перекись водорода и бактериоцины [40]. Ряд проведенных исследований установил, что такие штаммы *Lactobacillus*, как *Lactobacillus rhamnosus GR-1*, *Lactobacillus fermentum RC-14* и *Lactobacillus reuteri B-54* эффективны для лечения и профилактики ИМП, однако доза, продолжительность и метод введения не установлены, а доказательная база недостаточна [41, 42].

В ходе исследования, проведенного группой специалистов под руководством К. Malki, было обнаружено семь бактериофагов в мочевом пузыре у четырех женщин, страдающих НМ. Шесть из семи бактериофагов продемонстрировали высокую эффективность в инфицировании и размножении внутри *Escherichia coli* (*E. coli*). Один фаг (штамм *Wrath*) был менее культивируемым, чем другие, а последовательность его генома наиболее близко напоминала аннотированный профаг *Bacillus cereus D17*. Гомологичные кодирующие области были также идентифицированы у фагов *Bacillus VMPtpA* и *VMPtpLA4*. Присутствие интегразы в геноме *Wrath* показало, что данный бактериофаг является умеренным. Трансмиссионная электронная микроскопия выделенных бактериофагов показала, что они относятся к семейству *Caudovirales* [43].

С начала 2020 г. проводятся исследования, показывающие возможную зависимость изменения микробиоты здорового человека после заражения вирусом SARS-CoV-2. В группе больных, перенесших COVID-19, наблюдались значительные изменения в микробиоте по сравнению с контрольной группой, характеризующиеся наличием большого числа условно-патогенных микроорганизмов. Численность бактерий *Coprobacillus*, *Clostridium ramosum* и *Clostridium bathewayi* коррелировала с тяжестью COVID-19, в то время как наблюдалась обратная корреляция между численностью *Faecalibacterium prausnitzii* и тяжестью заболевания [44, 45].

# Ограничения использования бактериофагов

На втором заседании Круглого стола по активному внедрению бактериофагов в клиническую практику, прошедшем в 2018 г. под председательством W. Sybesma, были обозначены четыре проблемы, которые ограничивают применение бактериофагов [4]:

1. Качество и количество ранее проведенных исследований.
2. Производство коктейлей с бактериофагами, состав и методы применения в контексте действующей нормативно-правовой базы.
3. Недостаточная осведомленность медицинского персонала и широкой общественности о потенциальном использовании терапии бактериофагами.
4. Ограничения в защите интеллектуальной собственности для успешного терапевтического применения бактериофагов.

Одним из основных ограничений для принятия и реализации фаговой терапии является отсутствие двойных слепых плацебо-контролируемых рандомизированных клинических исследований, подтверждающих клиническую эффективность и преимущества бактериофагов в отношении инфекций, вызванных устойчивыми к антибиотикам бактериями. Наряду с этим имеющиеся данные далеки от предоставления статистически значимых выводов об эффективности. Как следствие, система здравоохранения и медицинское сообщество не решаются на применение терапии бактериофагами. Несмотря на увеличение количества проведенных исследований, количество полностью завершенных и хорошо задокументированных исследований по-прежнему невелико, чтобы делать выводы для различных нозологий, в которых можно применять терапию бактериофагами. В меньшей степени к ограничениям фаготерапии может быть отнесено отсутствие исследований, направленных на оценку степени иммунного ответа при взаимодействии с фагом [46].

Небольшие когорты пациентов, равно как и неспособность набрать достаточное количество пациентов, ограничивают выводы проводимых клинических исследований. Так, например, завершенное в 2017 г. исследование PhagoBurn (финансируемое Европейской комиссией в рамках программы исследований и разработок с участием клинических центров во Франции, Бельгии и Швейцарии) включало всего 27 пациентов из 11 центров, что было далеко от предварительно запланированных 220 пациентов, необходимых для получения статистически значимых результатов [47]. Причинами небольшого количества участников были названы жесткие критерии включения пациентов и более короткий период набора из-за нормативных ограничений.

Другое исследование с использованием бактериофага для лечения диареи, вызванной *E. coli* у детей, также было ограничено из-за недостаточного числа пациентов в результате досрочного завершения исследования.

В дополнение к индивидуальной безопасности пациентов локальные этические комитеты при рассмотрении протоколов клинических испытаний должны учитывать главную цель – получение значимых и обобщающих результатов. Приоритет следует отдавать инфекциям с установленными патогенами, а тестируемый продукт должен отражать клиническую реальность, чтобы охватывать указанные патогены.

Данные проведенного рандомизированного клинического исследования в группе больных, страдающих ИМП, получавших коктейль из бактериофагов, позволили несколько смягчить профиль безопасности. Кроме того, одним из критериев включения являлась чувствительность выявленного патогена (патогенов) *in vitro* к бактериофагу, присутствующему в коктейле, тем самым признавая весьма специфическое взаимодействие бактериофага с бактерией-хозяином. Чтобы постоянно расширять спектр коктейля во время исследования, для адаптации коктейля на основе бактериофагов использовали резистентные штаммы бактерий-хозяев, выделяемые от пациентов, включенных в исследование [48].

При планировании дизайна клинических исследований следует обращать особое внимание на способ и кратность применения исследуемого препарата. Ввиду хорошей воспроизводимости бактериофагов конечная их доза может экспоненциально увеличиваться при контакте с бактериальной популяцией. При рассмотрении подходов к монотерапии или комбинированной терапии стоит иметь в виду, что комплексные фаговые коктейли обладают существенно более широким спектром действия. Часто они содержат несколько бактериофагов к бактериям одного вида, что снижает вероятность быстрого формирования фагорезистентности. Кроме того, недостаток монофаготерапии обусловлен тем, что в инфекционном процессе редко участвует только один вид бактерии, и таргетирование только одной бактерии может существенно снижать эффективность терапии.

Отсутствие законодательной и нормативно-правовой баз производства и применения бактериофагов вносит дополнительные ограничения к активной популяризации. Природа бактериофагов и их эффективное клиническое использование несовместимы с современными требованиями к производству и допуску «статичных» химических препаратов, поскольку для обеспечения эффективного применения бактериофагов требуется непрерывно корректировать и адаптировать состав коктейля. Сложная ситуация с регламентированием производства бактериофагов прослеживается как в России, так и во всем мире.

Одной из причин, приводящих к недостаточно активной интеграции терапии бактериофагами в клиническую практику, является недостаточная осведомленность медицинского (в том числе среднего) персонала и общественности. В течение

многих лет история и потенциал терапии бактериофагами оставались вне поля зрения как пациентов, так и медицинского персонала. Бактериофаги стали вновь популярны с увеличением роста устойчивости патогенов к антибиотикам, тем не менее информированность населения и медицинских работников по-прежнему низкая. Одним из поворотных моментов может стать внедрение в учебный план студентов медицинских вузов информации о преимуществах и недостатках бактериофагов в терапии тех или иных заболеваний.

Большинство представленных в России препаратов на основе бактериофагов рекомендованы для лечения гнойно-воспалительных заболеваний кожи, слизистых оболочек и мягких тканей, инфекционных заболеваний желудочно-кишечного тракта, органов дыхательной и мочевыделительной систем. На сегодняшний день препараты на основе бактериофагов, выпускаемые в России, имеют статус безрецептурных.

Российская фармакопея устанавливает, что «поскольку фаговые препараты обладают строгой специфичностью действия, клинические испытания должны предусматривать только этиотропную антибактериальную терапию или профилактирование развития инфекций, обусловленных видами бактерий, соответствующими изучаемому препарату». Вместе с этим заслуживают внимание комплексные фаговые препараты, составленные на основе предварительного исследования наиболее часто встречаемых видов бактерий в том или ином биотопе и подбора бактериофагов к ним. Исходно такие коктейли обладают достаточно высокой эффективностью и к тому же данная эффективность может быть дополнительно повышена путем адаптации к микробному пейзажу конкретного пациента. Такая адаптивная фаготерапия может стать наиболее востребованной в ближайшем будущем при условии оперативного взаимодействия лечебного учреждения и разработчика фаговых препаратов. Местная (адресная) доставка фагов является более успешной для локализованной инфекции, в то время как для системных инфекций рекомендован парентеральный путь введения. При использовании пероральных форм препаратов необходимо учитывать чувствительность фагов к действию соляной кислоты желудка и в этом случае отдавать предпочтение доставке в кислотоустойчивой оболочке. В этой связи одним из важных этапов в становлении фаготерапии как неотъемлемой части урологической практики может стать использование инновационных лекарственных форм препаратов бактериофагов в форме геля. Так, например, гель, в отличие от традиционных жидких форм, позволит бактериофагам, входящим в его состав, дольше сохраняться на слизистых оболочках (в том числе слизистой мочеиспускательного канала, а также в области наружных половых органов), пролонгируя тем самым лечебное действие и повышая комплаентность к фаговой терапии [6].

# Антибиотикорезистентность

Антибиотикотерапия признана одним из самых успешных терапевтических вмешательств в истории медицины. Наряду со спасением колоссального числа жизней пациентов антибиотикотерапия сыграла решающую роль в реализации множества медицинских открытий, включая возможность проведения трансплантации органов и химиотерапии злокачественных новообразований. Потеря эффективности антибиотикотерапии была бы поистине катастрофой и, к сожалению, мир быстро приближается к этому – так называемой «постантибиотической эре». По оценкам экспертов, к 2050 г. из-за устойчивости к противомикробным препаратам летальность в группе больных, страдающих инфекционными заболеваниями, может увеличиться до 10 млн чел. в год. Наряду с тем, что эта цифра может быть завышенной, тем не менее она подчеркивает серьезность проблемы, с которой сталкиваются клиницисты при лечении бактериальных инфекций с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) [49].

Устойчивость к антибиотикам – это естественное явление, возникшее еще до разработки и использования антибиотиков человеком. В различных средах как микроорганизмы, так и высшие эукариоты производят множество биологически активных молекул, обладающих антибактериальными свойствами. Наряду с этим гены, придающие устойчивость современным антибиотикам, были идентифицированы в древних микробных популяциях, таких как вечная мерзлота в Арктике, что позволяет предположить, что устойчивость к антибиотикам существует даже в отсутствие антропогенного влияния.

Золотой век антибиотиков начался в 1940-х годах и продолжался более пяти десятилетий, когда было открыто и успешно внедрено в клиническую практику более 50 антибиотиков. В течение этого периода возникновение резистентности к конкретному антибиотику не вызывало беспокойства, поскольку быстро разрабатывались новые соединения, чаще всего обладавшие лучшими фармакокинетическими и фармакодинамическими характеристиками. Тем не менее начиная с середины 1990-х годов нарастание резистентности стало более очевидным поскольку скорость разработки и количество внедряемых новых антибиотиков неуклонно снижались. В какой-то степени развитие резистентности замедлило внедрение в клиническую практику модифицированных или комбинированных препаратов на основе ранее известных соединений [50, 51].

Новые лекарства должны пройти сложный процесс доказательства не только их эффективности, но и безопасности, благоприятного фармакокинетического профиля и экономической эффективности. Доказано, что только 5 из 10000 молекул-

кандидатов достигают I фазы исследований и только одна из этих пяти получает одобрение регулирующих органов для использования человеком. Процесс разработки лекарств настолько же дорог, насколько и долог, и фармацевтические компании не решаются инвестировать в антибиотики. Кроме того, антибиотики потребляются короткими курсами, что, несомненно, может снизить доход компании [52, 53].

Результатом последовательного приобретения признаков устойчивости к антибиотикам стало появление возбудителей с МЛУ, широкой лекарственной устойчивостью и даже с панрезистентностью [54]. Группа бактерий с множественной лекарственной устойчивостью включает бактерии *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter* и обозначается аббревиатурой ESKAPE, указывая на способность противостоять биоцидному действию антибиотиков посредством множественных механизмов резистентности [55]. Последние четыре из указанных в аббревиатуре патогенов, в частности штаммы, устойчивые к карбапенемам и цефалоспорином, были внесены ВОЗ в список критически приоритетных для пристального изучения и разработки новых антибактериальных препаратов. Дополнительные штаммы, обозначенные ВОЗ как высокоприоритетные, включают оставшихся патогенов ESKAPE, патогены *Helicobacter pylori*, виды *Campylobacter* и виды *Salmonella*, а также возбудителя, передающегося половым путем, – *Neisseria gonorrhoeae* [2]. Пациенты с сопутствующими заболеваниями, пациенты с любой степенью иммунодефицита и пациенты, госпитализированные в отделения интенсивной терапии, хирургические или ожоговые отделения, подвергаются более высокому риску заражения инфекцией с множественной лекарственной устойчивостью [56].

Стратегия борьбы с устойчивостью к антибактериальным препаратам должна предусматривать междисциплинарный подход, ключевым компонентом которого должно быть неукоснительное соблюдение регулирующих мер в отношении использования антибиотиков. В частности, недопустима безрецептурная продажа антибиотиков, назначение антибиотиков из группы резерва в качестве первой линии терапии, нерациональная фармакотерапия (назначение антибиотиков для лечения вирусных или грибковых инфекций, неоправданное продление курсов антибиотиков или использование противомикробных препаратов с более широким спектром действия и пр.) [57].

Возрастающее число госпитальных штаммов нозокомиальных бактерий увеличивает койко-день в послеоперационном периоде, частоту повторной госпитализации и количество используемых антибактериальных препаратов. В свете возрастающей антибактериальной резистентности резко увеличивается количество использования медицинских ресурсов, что в конечном счете приводит к увеличению стоимости лечения.

Увеличение числа сообщений об устойчивости к противомикробным препаратам и ограничения, связанные с разработкой новых антибиотиков, предопределили

поиск альтернативных методов борьбы с МЛУ, в частности использования бактериофагов. Использование фаготерапии в случае МЛУ к критически важным патогенам (*Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и представителям семейства *Enterobacteriaceae*) было подробно изучено L.L. Furfaro et al. [58].

*Acinetobacter baumannii* отнесен к критически важным патогенам из-за увеличения числа случаев формирования устойчивости к противомикробным препаратам и значительной роли в развитии внутрибольничных инфекций. Примерно через 20 лет после первого упоминания J.S. Soothill терапии бактериофагами против *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) на мышах [59] произошел всплеск сообщений об успешном выделении литических фагов *A. baumannii* и их активности *in vitro* и *in vivo* на животных. Также был охарактеризован новый лизин из профагов *A. baumannii*, способный уничтожать клинические изоляты с МЛУ. В 2017 г. коллектив авторов под руководством R.T. Schooley впервые сообщили об успешном внутривенном введении коктейля бактериофагов пациенту с инфицированной *A. baumannii* псевдокистой поджелудочной железы. На сегодняшний день это единственный случай успешного применения бактериофагов в терапии инфекций, вызванных *A. baumannii* [60].

*Pseudomonas aeruginosa* является основным оппортунистическим патогеном и одной из основных причин развития внутрибольничных инфекций. Фаговая терапия инфекций, вызываемых *Pseudomonas aeruginosa*, насчитывает свыше 50 лет [61, 62]. Коктейль из шести фагов успешно лечит респираторную инфекцию *Pseudomonas aeruginosa* у мышей и, кроме того, сепсис на моделях *Galleria mellonella* [63]. Способность некоторых фагов проникать в биопленки *Pseudomonas aeruginosa* и восстанавливать чувствительность к антибиотикам является еще одним важным преимуществом перед традиционными методами лечения [64].

В семействе *Enterobacteriaceae* *Escherichia coli* и *Klebsiella* spp. занимают первое место в списке критических патогенов, за которыми следуют *Enterobacter*, *Serratia* и *Proteus* spp. [65]. Большинство ранних исследований фагов проводились с колифагами (фагами, инфицирующими кишечную палочку), в частности с T4, что подтверждается многочисленными исследованиями. Совсем недавно исследования *in vitro* и *in vivo* показали многообещающие результаты, например контроль энтеропатогенной кишечной палочки у мышей с помощью фага, выделенного из больничных сточных вод, и влияние колифагов на планктонные инфекции и инфекции, связанные с формированием биопленки. *Klebsiella* spp. является частым внутрибольничным и внебольничным патогеном. Многочисленные исследования, проведенные *in vitro* и *in vivo* на биологических моделях, доказали эффективность интраназального применения фагов в лечении легочной инфекции и снижении уровня воспалительных цитокинов в легких, а также в увеличении скорости заживления ожоговых ран при местном применении фагов [66, 67].



# Бактериофаги и биопленки

На рубеже XXI в. окончательно сформировалось представление об особой форме организации микрофлоры организма человека – взаимодействующем сообществе микроорганизмов, покрывающем поверхности слизистых оболочек внутренних органов. Проведенные позднее экспериментальные исследования позволили доказать, что большинство бактерий существует не только в виде свободно циркулирующих клеток, но и в виде микробных сообществ, расположенных на различных абиотических и биотических поверхностях. Термин «биопленка», первоначально использовавшийся в микробиологии окружающей среды, был введен в клиническую медицину сравнительно недавно. В 1982 г. группой исследователей под руководством T.J. Marrie была обнаружена биопленка, образованная группой бактерий *Staphylococcus aureus* на одном из проводов кардиостимулятора [68].

В настоящее время доказана роль микробных биопленок в возникновении и развитии инфекций, связанных с катетеризацией сосудов, дренированием органов мочевыделительной системы, установкой клапанов сердца и электрокардиостимуляторов, протезов суставов и др. Из общего числа инфекционных осложнений на первом месте по частоте встречаемости находятся катетер-ассоциированные инфекции мочевыводящих путей [69]. Наличие устойчивых штаммов патогенных бактерий и развитие бактериальных биопленок являются основными проблемами в лечении инфекций органов мочевыделительной системы. Наряду с этим селекция резистентных штаммов ставит на первый план как рациональное применение антибактериальных препаратов, так и поиск альтернативных методов терапии.

Клетки в биопленках подчиняются строгим условиям роста. Первым этапом образования биопленки является отложение компонентов мочи на биоматериале, ведущее к постепенному образованию кондиционирующей (временной) пленки. Последующее отложение гликопротеинов (белка Тамма–Хорсфалла, различных ионов и полисахаридов) создает благоприятные условия для бактериальной адгезии, изменяя тем самым поверхностные характеристики биоматериалов. В этой связи становится очевидно, что биоматериалы с измененными характеристиками поверхности могут быть недостаточно эффективными в качестве мер предотвращения бактериальной адгезии. Второй этап образования биопленки – приближение и прикрепление микроорганизмов. За счет того, что планктонные бактериальные клетки высвобождают протоны и сигнальные молекулы, начинается активный процесс адгезии, который под воздействием бактериальных полисахаридов считается необратимым.

Некоторые факторы вирулентности бактерий играют важную роль в патогенезе образования биопленок. Так, например, фактор адгезина Fimbriae type 1 (FimA) играет

важную роль в индукции адгезии к эпителиальным клеткам хозяина на ранних стадиях образования биопленки, а фактор PapC формирует образование структур для прикрепления к клеткам-хозяина или материалам катетера. Fimbriae S (SfaS) также может связываться с эпителием верхних и нижних «отделов» мочевых путей, что приводит к колонизации бактерий [70].

Понимание патогенеза позволяет выделить ряд механизмов, приводящих к неспособности противомикробных препаратов разрушать сформированные биопленки [71]:

1. Гликокаликс ограничивает доступ и последующее распространение противомикробных средств для более глубоких слоев бактерий (внешняя устойчивость). Исследования *in situ* показали, что поверхностная пленка влияет на транспорт питательных веществ и препятствует транспортировке противомикробных средств.
2. Скорость роста бактерий в биопленке очень разнообразна. Быстрорастущие и более восприимчивые бактерии располагаются более поверхностно, в то время как медленно растущие бактерии, особенно устойчивые к действию антимикробных препаратов, располагаются в глубоких слоях сформированной биопленки. Кроме того, антимикробные связывающие белки плохо экспрессируются в медленно растущих бактериях, что делает их неэффективными.
3. Бактерии в биопленке фенотипически отличаются от свободно циркулирующих (планктонных) бактерий. В этой связи применение антибактериальных средств, основанное на выявлении возбудителя при бактериологическом анализе мочи, неэффективно. Бактерии в биопленке активируют гены, меняющие клеточную оболочку, что приводит к изменению чувствительности к антимикробным препаратам (внутренняя устойчивость). Фенотипические изменения, приводящие к изменению белковой структуры, играют гораздо более важную роль в развитии антибактериальной устойчивости, чем внешняя устойчивость, обеспечиваемая экзополисахаридной матрицей.
4. Бактерии в биопленке могут обмениваться друг с другом генетической информацией и плазмидами.
5. Бактерии в биопленке способны выживать в присутствии противомикробных препаратов в концентрациях, в сотни раз превышающих концентрации, убивающие планктонные бактерии того же вида.

Одной из возможных мер предотвращения образования биопленок является использование антибактериальных препаратов. Из накопленных данных следует, что по механизму воздействия на бактериальные биопленки антибиотики могут быть разделены на два типа: к первому относят антибиотики, проникающие в биопленки

и угнетающие дальнейший рост микроорганизмов, ко второму – антибиотики, не проникающие в биопленки, но эффективно препятствующие их росту за счет угнетения мигрирующих бактерий [72].

По данным некоторых исследований *in vitro* и *in vivo*, бета-лактамы антибиотики и аминогликозиды могут предотвращать образование и последующее распространение недавно образованных, «молодых» биопленок в процессе их формирования. С другой стороны такие фторхинолоны, как офлоксацин, левофлоксацин и ципрофлоксацин эффективны как для «молодых», так и для долго существующих биопленок из-за хороших проникающих свойств данной фармакологической группы.

Большинство исследователей считают, что антибиотики могут лишь замедлить процесс образования биопленок за счет устранения незащищенных планктонных бактерий и снижения метаболической активности бактерий на поверхности биопленки. Также было установлено, что в биопленки, представленные преимущественно *Klebsiella pneumoniae*, плохо проникает ампициллин, а в семейство *Enterococcus faecalis* – ко-тримоксазол и ванкомицин. В биопленки ряда микробов плохо проникает широко используемый амоксициллин. В дополнение к этому в исследованиях, проведенных на культурах бактерий с предварительно изолированными фрагментами уретрального катетера и мочеточникового стента, было показано, что бактериальные клетки легко адгезируются и колонизируются на поверхности, несмотря на применение антибактериальных препаратов [73–75].

Учитывая увеличивающееся число антибиотикорезистентных штаммов патогенных бактерий и недостаточную эффективность антибактериальных средств в терапии биопленок, значительно возрос интерес к альтернативным средствам и методам профилактики. Наряду с разработкой новых и усовершенствованием имеющихся адгезионно-стойких поверхностей биоматериала, использованием катетеров с гидрофильным покрытием внимание клиницистов сконцентрировано на применении пробиотиков и их метаболитов, а также антибиопленочных агентов и протеолитических ферментов [76]. В последнее время значительно возросла доказательная база применения бактериофагов в борьбе с патогенными биопленками. По мнению D.R. Harper et al., в основе воздействия бактериофагов на биопленку лежит как минимум четыре механизма действия [77]:

1. Бактериофаги реплицируются в клетках-хозяевах, что приводит к локальному увеличению количества бактериофагов (амплификация) и последующему еще большему высвобождению бактериофагов-потомков в биопленку. Распространяясь через биопленку и уничтожая бактерии, продуцирующие материал экзополисахарида матрицы, бактериофаги могут постепенно удалять биопленку и снижать возможность регенерации.

2. Бактериофаги могут транспортировать или экспрессировать деполимеризующие ферменты, разрушающие матрицу эндоплазматической сети.
3. Бактериофаги могут индуцировать деполимеризующие ферменты, которые разрушают матрицу эндоплазматической сети изнутри генома хозяина.
4. Клетки-персистеры (особые формы клеток, которые формируются в популяциях бактерий при прекращении их роста) могут быть инфицированы бактериофагами с образованием профага; профаги длительное время могут оставаться внутри бактерий, до момента репликации.

Известно, что многие геномы бактериофагов содержат гены ферментов, способных расщеплять элементы матрикса биопленок [78]. Во многих случаях это растворимые ферменты, которые нацелены на стенку бактериальной клетки, но они также могут разрушать матрицу эндоплазматической сети биопленки при высвобождении из лизирующих клеток-хозяев. Эти клетки также выделяют ДНК, которая может вносить вклад в матрикс биопленки, но также может высвобождать ферменты – дезоксирибонуклеазы, которые присутствуют в клетках-хозяевах как часть нормальной репликации [79]. В дополнение к этому, многие бактериофаги, такие как, например, бактериофаги T4 и НК620 *E. coli*, имеют ферменты, присутствующие в хвостовой части, они способствуют проникновению через стенку бактериальной клетки [80].

Бактериофаги, нацеленные на род *Pseudomonas*, были впервые обнаружены в середине XX в., и из-за высокой роли данной патогенной бактерии в развитии внутрибольничных инфекций и высокой устойчивости к антибиотикам получили сравнительно высокую оценку. Бактериофаговый коктейль приводит к значимому снижению развития инфекций, вызываемых *Pseudomonas aeruginosa*, что было подтверждено исследованиями *in vitro*, проведенными A.R. Hall et al. [81]. Hanlon G.W. et al. показали, что коктейли с бактериофагами могут легко проникать в биопленку *Pseudomonas aeruginosa* и разрушать ее структуру, индуцируя синтез ферментов, таких как полисахарид-деполимераза [82].

Полисахарид-деполимераза и полисахарид-гидролаза, кодируемая бактериофагами, могут специфически расщеплять макромолекулы углеводов бактериальной оболочки [80]. Кроме того, бактериофаги генерируют ферменты пептидогликангидролазы, называемые эндолизинами, в конце литического цикла. Они расщепляют пептидогликан внутри клетки и способствуют образованию новых фагов-потомков, которые высвобождаются из клетки. Следует отметить, что бактериофаги обладают преимуществами перед антибиотиками в подавлении инфекций, вызванных бактериальными биопленками: бактериофаги способны проникать во внутренний слой биопленки (за счет меньшего размера), инфицировать клетки-персистеры и разрушать их, если они реактивируются [83].

Бактериофаги могут растворять матрикс эндоплазматической сети биопленки, продуцируя тем самым фермент или индуцируя выработку фермента бактерией [84]. Другой механизм ингибирования биопленки бактериофагами заключается в выработке ферментов, которые подавляют образование биопленки.

В исследовании R. Pei et al. сообщалось о том, что бактериофаги могут индуцировать синтез лактоназы путем генетической модификации, которая ингибирует образование биопленок у *Pseudomonas aeruginosa* путем гидролиза ацилгмосериновых лактонов и ингибирования активности кворум-чувствительности [85]. Экспериментальные данные показывают, что бактериофаги показывают хороший терапевтический эффект на биопленках *Pseudomonas aeruginosa*, по крайней мере, на ранних стадиях формирования биопленки.

Используя биопленки двухдневной давности, H. Ceri et al. обнаружили, что из 17 штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, которые были нечувствительны к тестируемому набору бактериофагов в анализе биопленки, 8 штаммов поддерживали рост тех же бактериофагов, что и в модели биопленки [86].

В исследовании, проведенном Z. Chegini et al., было показано, что бактериофаги могут быть эффективны в подавлении роста биопленки, образованной *Pseudomonas aeruginosa*, за счет разрушения внеклеточного матрикса и увеличения проницаемости внутреннего слоя биопленки для антибиотиков [87]. Кроме того, авторы доказали, что комбинированное использование бактериофагов и других соединений с антибиотическими свойствами может представлять большой интерес, обусловленный симбиотическим воздействием на клеточную мембрану бактерий биопленки.

# Опыт клинического применения бактериофагов в урологии

Использовать бактериофаги в качестве терапевтических средств для лечения бактериальных инфекций начали задолго до первого клинического применения антибиотиков, но открытие антибиотиков широкого спектра действия в 1940-х годах быстро затмило и вытеснило использование фаготерапии в большинстве стран мира. Фаготерапия продолжила свое развитие в некоторых странах Восточной Европы и СССР. Инфекции мочевыводящих путей остаются одной из актуальных проблем оказания квалифицированной медицинской помощи.

На многие вопросы лечения и профилактики инфекционных осложнений, обусловленных высокой устойчивостью бактериальных агентов к антимикробным препаратам, ответы по-прежнему не найдены. Возбудители нозокомиальных инфекций становятся все более устойчивыми к используемым препаратам, в то время как темпы синтеза новых лекарственных средств уступают темпам нарастания антибиотикорезистентности. Широкому внедрению бактериофагов в клиническую практику способствовало развитие новых представлений как о молекулярной биологии, так и об экологических взаимоотношениях бактериофагов и их хозяев [88–90].

По мнению W. Sybesma et al., бактериофаги могут быть весьма подходящим средством для лечения больных с ИМП: по сравнению с антибиотиками последнего поколения бактериофаги относительно дешевы, а лечение можно проводить местно при помощи внутрипузырного введения [91]. В 2013 г. автором впервые была показана литическая активность коммерчески доступных бактериофагов (Pyo, Intesti, Ses и Enko, Тбилиси, Грузия) на примере 41 штамма *E. coli* и 9 штаммов *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), выделенных из мочи 50 пациентов, страдающих ИМП. Ни одному из 50 пациентов не проводили АБТ в течение 4 нед, предшествующих исследованию. Средний возраст пациентов составил  $55 \pm 18$  лет. Причинами ИМП были травма спинного мозга у 38 (76 %) пациентов, рассеянный склероз – у 8 (16 %), стеноз позвоночного канала – у 4 (4 %). Из 50 пациентов 34 (68 %) проводили интермиттирующую катетеризацию, у 12 (24 %) был установлен постоянный катетер (у 4 пациентов – уретральный катетер, у 8 – цистостомический дренаж), у 4 (16 %) пациентов наблюдалось недержание мочи. Помимо указанных бактериофагов авторы использовали 29 бактериофагов *E. coli* и 10 бактериофагов *K. pneumoniae* из коллекции бактериофагов Института бактериофагов, микробиологии и вирусологии им. Георгия Элиавы. Средний титр смеси составил  $10^4$ – $10^5$  по Апфельману, что соответствует титру  $10^7$ – $10^9$  БОЕ/мл. Антибиограмма 41 штамма *E. coli* и 9 штаммов *K. pneumoniae* показала

способность всех штаммов продуцировать бета-лактамазу расширенного спектра действия, а также их чувствительность или резистентность к тестируемым антибиотикам. Литическая активность коммерчески доступных бактериофагов в отношении 41 штамма *E. coli* варьировала от 66 % (27 штаммов, чувствительных к бактериофагам Р<sub>уо</sub>) до 93 % (38 штаммов, чувствительных к бактериофагам Еп<sub>кo</sub>). Из 29 бактериофагов *E. coli* коллекции Института бактериофагов наибольшую литическую активность проявляли бактериофаги vB\_E.coli\_4t, vB\_E.coli\_4s и vB\_E.coli\_Pic. Три штамма *E. coli* (*E. coli* 5, *E. coli* 29 и *E. coli* 35 ESBL) показали полную устойчивость ко всем бактериофагам из всех коммерческих смесей бактериофагов и к 29 бактериофагам *E. coli* из коллекции Института бактериофагов. Последующая адаптация бактериофагов Р<sub>уо</sub> позволила увеличить литическую активность с 27 до 38 чувствительных штаммов (от 66 до 93 %), включая 2 из 3 ранее упомянутых резистентных к первоначальному составу штаммов. В целом все штаммы *E. coli*, кроме одного, были лизированы 1 из 4 коммерческих бактериофагов и лишь 1 штамм *E. coli* (35 ESBL) оставался резистентным даже после адаптации бактериофага Р<sub>уо</sub>. В отношении чувствительности к штаммам *K. pneumoniae* наилучший результат показал бактериофаг v\_B – KpS10, способный лизировать все 9 штаммов.

В 2016 г. коллективом авторов под руководством А. Ujmajuridze проведено проспективное исследование (первый этап рандомизированного клинического исследования) с участием 130 пациентов, которым была запланирована операция по трансуретральной резекции предстательной железы (ТУРП) [92]. Бактериологический анализ мочи, проведенный до оперативного лечения, показал наличие уропатогенов у 118 (91 %) пациентов. Главным образом, микробный пейзаж был представлен штаммами *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Streptococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* и *Proteus mirabilis*) в титре 10<sup>4</sup> КОЕ/мл и более. Выделенные культуры последовательно подвергали анализу *in vitro* на чувствительность к адаптированному раствору бактериофага Р<sub>уо</sub> (Eliava BioPreparations Ltd., Тбилиси, Грузия). Средний возраст пациентов составил 69 ± 12 лет, средний размер предстательной железы – 77 ± 37 мл, максимальная скорость мочеиспускания – 11 ± 3 мл/с (объем остаточной мочи – 80 ± 100 мл), среднее время операции – 48 мин. Осложнений при операциях на предстательной железе не было. Периоперационную антибиотикопрофилактику не применяли. Всем пациентам после ТУРП проводили ирригацию раствором бактериофагов через цистостомический дренаж дважды в день на протяжении 7 дней. Раствор объемом 20 мл оставался в мочевом пузыре примерно на 30–60 мин. Потенциальную эффективность оценивали с использованием клинических/микробиологических параметров и определяли как отсутствие клинических признаков инфекции и снижение количества штаммов бактерий. Проведенный бактериологический анализ показал, что около 24 % штаммов патогенных бактерий были чувствительны и 17 % умеренно чувствительны к бактериофагу

Р<sub>90</sub> (общая чувствительность 41 %). После четырех циклов адаптации чувствительность и умеренная чувствительность увеличились до 41 % и 34 % соответственно (общая чувствительность 75 %).

Вторым этапом исследования, изучающим эффективность внутрипузырного введения бактериофагов в лечении ИМП [93], авторы провели рандомизированное плацебо-контролируемое двойное слепое клиническое исследование. Исследуемая группа больных ( $n = 113$ ) была случайным образом рандомизирована в одну из трех групп для получения бактериофага: 1-я группа ( $n = 37$ ) получала раствор бактериофага Р<sub>90</sub> (Eliava BioPreparations Ltd., Тбилиси, Грузия), 2-я группа ( $n = 38$ ) – плацебо (стерильный физиологический раствор), 3-я группа ( $n = 38$ ) – антибактериальный препарат в соответствии с выявленной чувствительностью. В 1-й и 2-й группах (заслепленные группы) антибиотикопрофилактику не проводили. Каждому пациенту до и после оперативного лечения (ТУРП) были выполнены общий анализ мочи, бактериологический анализ мочи и проведено анкетирование (опросник IPSS). В ходе проведенного исследования нормализация бактериологического анализа мочи была достигнута у 5 (18 %) из 28 пациентов в 1-й группе больных по сравнению с 9 (28 %) из 38 пациентов во 2-й группе ( $p = 0,47$ ) и у 13 (35 %) из 38 пациентов в 3-й группе больных ( $p = 0,11$ ). Авторы сделали вывод об эффективности внутрипузырной терапии бактериофагами по сравнению с антибиотиками. Вместе с этим терапия бактериофагами не превосходила ирригацию мочевого пузыря физиологическим раствором в группе плацебо. Профиль безопасности бактериофагов оставался благоприятным, ни одного осложнения отмечено не было.

По мнению L. Leitner et al., у пациентов с симптомами нижних мочевых путей, обусловленных нейрогенными причинами, и применяющих интермиттирующую катетеризацию, внутрипузырное введение раствора бактериофага является оправданным, поскольку позволяет добиться высокой эффективности как при острых, так и при рецидивирующих или хронических ИМП. Терапия бактериофагами позволяет уменьшить чрезмерное использование антибиотиков и защитить пациентов от бактерий с МЛУ [94].

В рамках реализации гранта Российского научного фонда (соглашение № 19-15-00379) в клинике урологии Московского государственного медико-стоматологического университета (МГМСУ) им. А.И. Евдокимова проведена оценка эффективности и безопасности разработанного препарата на основе бактериофагов в гелевой форме для профилактики инфекций органов мочевыделительной системы при проведении лечебных и диагностических манипуляций, а также в группе больных с хроническим рецидивирующим циститом – в форме раствора для внутрипузырного введения и в форме ректальных свечей [95, 96].

В первоначальное проспективное исследование были включены 600 пациентов, из них 345 мужского пола и 255 женского. У всех пациентов основной группы ( $n = 300$ ) при



проведении различных инструментальных исследований, лечебно-диагностических процедур и оперативного лечения, а также с целью профилактики катетер-ассоциированных инфекций мочевыводящих путей был использован разработанный препарат на основе бактериофагов и лидокаина в гелевой форме. В группе контроля ( $n = 300$ ) использован гель на основе хлоргексидина дигидрохлорида и лидокаина гидрохлорида. В каждом случае после обработки наружного отверстия уретры дезинфицирующим раствором интрауретрально было введено 10 мл геля. Время экспозиции составило 5 мин. Изучена эффективность разработанного препарата с определением первичных точек (наличие бактериурии, анализ качественного состава возбудителей, симптомов мочевого инфекции) и вторичных точек (наличие лихорадки на 1-е и 3-и сутки после проведенной манипуляции и болевого синдрома до и после проведенной манипуляции по данным VAS (Visual Analogue Scale)).

Средний возраст пациентов составил 56,3 года. В обеих группах до исследования при бактериологическом анализе мочи отсутствовали клинически значимые титры патогенных бактерий, в то время как после исследований число патогенных бактерий превалировало в контрольной группе ( $p > 0,04$ ). Выраженность болевого синдрома после исследования и спустя 1 и 3 сут в группах больных, перенесших цистоскопию, практически не отличалась. Температура была незначительно повышена в контрольной группе и в большинстве случаев коррелировала с наличием бактериальных штаммов в моче. Частота дизурических явлений (как одного из проявлений симптоматической катетер-ассоциированной инфекции) после удаления уретрального катетера в группе больных, перенесших оперативное лечение, была ниже в основной группе ( $p < 0,05$ ).

В результате проведенных собственных клинико-экспериментальных исследований было установлено, что гелевый состав разработанного препарата обеспечивает надежную фиксацию средства на слизистой мочеиспускательного канала и обеспечивает превосходный оптический обзор при выполнении трансуретральных процедур и манипуляций. Ни у одного из пациентов не было аллергической реакции и непереносимости разработанного препарата.

Сохраняющийся высокий процент инфекционных заболеваний органов мочевыделительной системы побудил нас провести собственное исследование, направленное на оценку разработанного препарата на основе бактериофагов в терапии у пациентов с хроническим рецидивирующим циститом. На проведение клинического исследования в параллельных группах по изучению эффективности и безопасности препарата для внутривезикулярного введения на основе бактериофагов, разработанного совместно с ООО НПЦ «МикроМир» (Россия), в терапии у пациентов с хроническим рецидивирующим циститом было получено одобрение Межвузовского комитета по этике ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова»

Минздрава России (выписка из протокола № 03 заседания от 18.03.2021 г.). Основными задачами данного исследования были оценка терапевтической эффективности внутрипузырного применения препарата на основе бактериофагов в комплексной терапии у пациентов с хроническим рецидивирующим циститом в сравнении с ректальными свечами, содержащими аналогичный состав бактериофагов, что и раствор для внутрипузырного введения, а также оценка безопасности применения и возможные побочные эффекты препарата для внутрипузырного введения на основе бактериофагов.

В исследование были включены 125 женщин в возрасте от 18 до 65 лет с диагнозом хронический рецидивирующий цистит (МКБ-10: N30.2). Согласно критериям включения (пациентки с двумя эпизодами рецидивирующего цистита в течение последних 6 мес или тремя эпизодами в течение последнего года; наличие  $10^4$  КОЕ/мл и более уропатогенов и чувствительных уропатогенов к бактериофагам) и невключения, в окончательный пул больных вошли 75 пациенток.

Пациентки были рандомизированы в основную и две контрольные группы в соотношении 1:1:1. Пациентки 1-й (основной) группы получали лечение препаратом для внутрипузырного введения на основе бактериофагов, из расчета 2 инстилляций (50 мл раствора) в неделю в течение 12 нед, а также ректальные свечи с бактериофагами 1 раз в день в течение 1-й недели, затем – по 1 свече 2 раза в неделю. Пациентки 2-й (контрольной) группы получали лечение препаратом для внутрипузырного введения на основе бактериофагов, из расчета 2 инстилляций (50 мл раствора) в неделю в течение 12 нед. Пациентки 3-й (контрольной) группы получали лечение препаратом с бактериофагами в виде ректальных свечей, из расчета по одной свече 1 раз в день в течение 1-й недели, затем – по 1 свече 2 раза в неделю.

В ходе проведения инстилляций использовали одноразовый стерильный катетер Нелатона № 14 Ch, а препарат на основе бактериофагов вводили внутрипузырно после обработки наружного отверстия уретры антисептическим раствором. Оценка эффективности предусматривала определение первичных критериев:

- сравнительную оценку состояния пациенток в группах по динамике изменений основных клинических симптомов, а именно: выраженности болевого симптома (боли в нижних отделах живота при мочеиспускании), дизурических симптомов (учащенное мочеиспускание, ложные позывы, недержание мочи, чувство неполного опорожнения мочевого пузыря), жжения при мочеиспускании;
- сравнительную оценку состояния пациенток, получавших различные схемы терапии бактериофагами, по динамике изменения данных шкалы симптомов тазовой боли, urgency/частоты мочеиспускания (PUF – Pelvic Pain and Urgency);

- сравнительную оценку состояния пациенток, получавших терапию бактериофагами, по динамике изменения данных шкалы оценки симптомов острого цистита (ACSS – Acute Cystitis Symptom Score);
- сравнительную оценку состояния пациенток, получавших терапию бактериофагами, по динамике изменения объективных параметров лабораторных исследований (общего анализа мочи, микробиологического исследования мочи).

А также определение вторичных критериев – оценку возможного изменения чувствительности уропатогенов к антибактериальным препаратам. Профиль безопасности предусматривал анализ нежелательных и серьезных нежелательных явлений по данным физикального обследования, лабораторного обследования (общий анализ крови, анализ мочи), регистрацию жизненно важных функций (артериального давления, частоты сердечных сокращений, частоты дыхательных движений и температуры тела).

Всем пациенткам перед введением исследуемого препарата, а также спустя 14, 30 и 90 дней терапии были проведены клинический анализ крови, общий анализ мочи, бактериологический анализ мочи с определением чувствительности выявленного возбудителя к антибактериальному препарату и бактериофагам, а также бактериологический анализ мочи методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) для выявления возбудителей. Объективную эффективность оценивали по наличию в бактериологическом анализе мочи роста патогенной микрофлоры в клинически значимом титре ( $10^3$  КОЕ/мл и более), а также определению уропатогенной микрофлоры путем проведения бактериологического анализа мочи при помощи ПЦР.

При наличии роста патогенной микрофлоры на 1-м визите и отсутствии на 4-м визите динамику оценивали как «положительную»; при отсутствии роста патогенной микрофлоры на 1-м визите и наличии роста патогенных и условно-патогенных микроорганизмов на 4-м визите – как «условно положительную», ввиду доказанной спровоцированной персистенции уропатогенов. При наличии постоянной персистенции патогенных микроорганизмов на всех визитах, но с динамикой снижения титра уропатогенов к 4-му визиту, динамику также оценивали как «условно положительную». Общая продолжительность исследования составила 12 нед.

Средний возраст пациенток, включенных в 1-ю и 2-ю группы, составил по 49 лет, в 3-ю группу – 54 года. Тридцать восемь (76 %) пациенток в ходе проведения исследования были обучены методике аутокатетеризации. Температура тела на момент введения препарата, а также через 24 ч и 72 ч после введения исследуемого препарата не превышала референсных значений. Проведенный бактериологический анализ мочи пациенток показал преимущественный рост *E. coli* в клинически значимом титре ( $10^4$  КОЕ/мл и более) на 1–2-м визитах с постепенным уменьшением до клинически

незначимых титров ( $10^3$  КОЕ/мл и менее) на момент прохождения 3–4-го визитов, а также рост *Klebsiella* spp., *Enterococcus fecalis*, *Proteus mirabilis* и микст-инфекций в клинически значимом титре ( $10^4$  КОЕ/мл и более) на 1–2-м визитах, в большинстве случаев с динамикой с постепенного уменьшения до клинически незначимых титров ( $10^3$  КОЕ/мл и менее) на момент прохождения 3–4-го визитов.

Наше исследование показало, что чувствительность бактериологического анализа мочи составила 66,7 %, в то время как чувствительность ПЦР диагностики мочи – 80 %. Таким образом, анализ ИМП на основе ПЦР не уступал традиционному посеву мочи для выявления значимых уропатогенов у пациенток с хроническим рецидивирующим циститом, а также показал свое преимущество, что сопоставимо с данными мировых исследований.

Результаты анализа мочи при помощи ПЦР показали, что динамика бактериологического исследования в процессе применения бактериофагов оказалась «положительной» в 18,7 % случаев и «условно положительной» в 81,3 % случаев. Микробиологическая эффективность оценивалась после завершения курса фаготерапии. В большинстве случаев оценка результатов терапии показала элиминацию возбудителя и снижение титра уропатогенной флоры в биологическом материале на 2–3 порядка и более, что свидетельствует о наличии микробиологической эффективности фаготерапии при хроническом рецидивирующем цистите. Также у пациенток с полирезистентностью к антибиотикам на 4-м визите отмечено появление чувствительности уропатогенов к некоторым антибактериальным препаратам, что в дальнейшем, безусловно, расширит возможности терапии больных хроническим рецидивирующим циститом с полирезистентностью к противомикробным препаратам. Персистенция уропатогенов на фоне терапии препаратами на основе бактериофагов проявилась за счет влияния бактериофагов на био пленку, что в дальнейшем обеспечивает изменение чувствительности уропатогенов к антибактериальным препаратам как вторичный критерий эффективности.

В ходе проведенного исследования отмечена хорошая переносимость терапии, а также уменьшение клинической симптоматики во всех трех группах пациенток. Суммарный балл по шкале PUF (три группы пациенток) на 1-м визите составил 16,6 балла с последующей тенденцией к уменьшению до 10 баллов на 4-м визите. Суммарный балл типичных и дифференциальных симптомов по шкале ACSS на 1-м визите составил 7,3 и 1,16 балла соответственно, в то время как на 4-м визите данные показатели составили 3,55 и 0,71 балла соответственно. Суммарная оценка динамики изменения состояния в ходе проводимой терапии при контрольном посещении, по данным шкалы ACSS (три группы пациенток), составила на 2-м визите 2,17 балла, на 4-м визите – 1,5 балла. Суммарный балл качества жизни по шкале ACSS (три группы пациенток) на 1-м визите был равен 3,69 балла, на 4-м визите – 1,5 балла. Комплаентность терапии составила 89 %, 90 % и 94 % для 1, 2 и 3-й групп соответственно.

Проведенная серия клинико-экспериментальных работ показала безусловную эффективность и безопасность внутривезикулярного и ректального применения препарата на основе бактериофагов не только в комплексной терапии у пациентов с хроническим рецидивирующим циститом, но и для профилактики обострений, что, безусловно, способствует потенциальному его внедрению в рутинную практику врача-уролога амбулаторного и стационарного звеньев.

# Перспективы дальнейшего развития

Эра редактирования генов привела к активному обсуждению возможности создания генетически модифицированных бактериофагов. Недавние достижения в редактировании CRISPR/Cas сделали редактирование ДНК бактериофагов широко обсуждаемой темой, поскольку данную технологию можно применять практически к любому бактериофагу, независимо от его размера и/или свойств. Даже бактериофаги, кодирующие анти-CRISPR-белки, или бактериофаги без механизма репарации CRISPR/Cas-индуцированных сегментов могут быть отредактированы с использованием различных типов CRISPR/Cas путем включения репарирующего белка из другого бактериофага. Более того, редактирование CRISPR/Cas можно применять и к бактериофагам, нацеленным на представителей группы патогенов ESKAPE [97, 98]. Примеры мишени генной инженерии для применения в терапии бактериофагами представлены в таблице 2.

Семь бактериофагов от разных хозяев недавно были успешно отредактированы с использованием трех разных типов CRISPR/Cas [98]:

1. Тип I-E, преобладающий у *E. coli*.
2. Тип II-A, требующий наличия только одного белка Cas 9 и sgRNA для возможности редактирования, лучше всего описан на данный момент.
3. Тип III-A, не требующий наличия белка и непосредственно примыкающий к протоспейсеру.

Одним из ограничений, касающихся внедрения «отредактированных» бактериофагов, является риск возможности сохранения и воспроизведения в случае возникновения спонтанных мутаций, препятствующих CRISPR/Cas. Как следствие, появятся бактериофаги с множеством точечных мутаций во встроенных чужеродных генах, что сделает предполагаемые модификации бесполезными. CRISPR/Cas-отредактированные бактериофаги с генными вставками будут классифицироваться как генетически модифицированные организмы (ГМО), что может создать дополнительные препятствия для их утверждения в качестве терапевтических средств. В этой связи будущее модифицированных бактериофагов зависит от регулирования ГМО в отдельных странах [99].

**Таблица 2.** Мишени генной инженерии в терапии бактериофагами [4]

<b>Ген</b>	<b>Модификация</b>	<b>Цель</b>	<b>Преимущество терапии природными бактериофагами</b>
Антимикробный белок	Вставка/замена гена	Фаг, убивающий другие штаммы	Продукт для смешанных инфекций
Фермент, разрушающий биопленку	Вставка/замена гена	Разлагающаяся биопленка	Более активен в отношении штаммов, образующих биопленки
Фактор вирулентности	Удаление гена	Нет передачи вирулентности	Новый терапевтический бактериофаг
Белки базовой пластины/хвостовые волокна	Замена гена	Измененный диапазон бактериальных мишеней	Новый терапевтический бактериофаг для смешанных инфекций
Рецептор-связывающий белок/структурные белки	Мутации одного гена	Более широкий диапазон бактериальных мишеней	Быстрее полученный бактериофаг с большей эффективностью
Основной капсидный белок	Вставка тегов очистки	Более эффективная очистка	Более чистый продукт
Основной капсидный белок	Вставка антииммунных меток/мутации одного гена	Более длительная циркуляция в кровотоке	Быстрее полученный бактериофаг с большей эффективностью
Различные, например литический модуль	Генный нокаут	Нерепликативный бактериофаг	Контроль репликации бактериофага
Антитело к эндотоксину	Вставка/замена гена	Удаление эндотоксинов	Более безопасный продукт

## Заключение

Возникновение большого количества устойчивых к различным антибиотикам бактериальных штаммов и их быстрое распространение в окружающей среде привело к росту научного интереса к терапии бактериофагами в качестве альтернативного метода лечения. Бактериофаги используются для лечения бактериальных инфекций с начала прошлого века, однако их активное применение ограничено в основном некоторыми центрами в России, Грузии, Польше, Бельгии и Швейцарии. Фаги можно вводить местно или перорально в виде коктейлей или монокомпонентных препаратов, в комплексном лечении и в виде монотерапии, а также сочетать с приемом антибиотиков. С появлением устойчивости к антибиотикам клинический и научный интерес к лечению фагами постепенно вернулся и в многочисленных исследованиях сообщается о сравнительно высокой эффективности бактериофагов при сравнительно небольшом (или полном отсутствии) побочных эффектов, связанных с лечением.

Наиболее часто упоминаемые проблемы, связанные с использованием бактериофагов в качестве терапевтических средств, включают главным образом вопросы безопасности и эффективности, а также возможности развития иммунного ответа организма на введение фагов. Следует отметить, что к настоящему времени в литературе отсутствуют какие-либо свидетельства, ставящие под сомнение безопасность корректно произведенных средств с бактериофагами. Недостаточная клиническая эффективность чаще всего характерна для монопрепаратов, когда подбор фагов для одной выявленной из клинического материала бактерии дает весьма ограниченный лечебный эффект, учитывая поливалентный характер большинства инфекционных процессов. Возможность формирования иммунного ответа на фаговые препараты также широко обсуждается. Наряду с этим убедительные доказательства того, что подобный ответ существует, по-прежнему отсутствуют. Вместе с этим специфичность и способность к эволюции наделяют фаги очевидными преимуществами в качестве противомикробных препаратов, особенно по сравнению с антибиотиками. Другие преимущества включают возможность комбинирования фагов с антибиотиками для повышения их эффективности или целенаправленного воздействия на устойчивые к антибиотикам бактерии.

Применение бактериофагов варьирует от диагностики бактериальных заболеваний посредством фагового типирования до профилактики (фаговая вакцина) и лечения инфекционных заболеваний (фаговая терапия). Преимущество фаготерапии в урологии заключается в местном применении препарата, возможности его использования в профилактических целях, безопасности, однако на данный момент бактериофагов в удобной для локального введения форме не существует. Зарегистрированные



препараты на основе бактериофагов разработаны не для таргетного лечения бактериальных урогенитальных инфекций и выпускаются в жидкой форме, имеющей статичные состав и концентрацию, что ограничивает антимикробный спектр для применения препарата, что в результате приводит к недостаточной терапевтической эффективности в области лечения; отсутствует возможность персонализированной адаптации фагового препарата под каждого конкретного пациента или группу пациентов, что приводит к снижению комплаентности к проводимой терапии. При сравнении ряда потенциальных преимуществ и сравнительно небольшого количества недостатков, фаги, безусловно, обладают рядом характеристик, которые придают им сильнейший терапевтический потенциал в качестве альтернативных средств борьбы с существующими устойчивыми бактериальными штаммами.

В рамках проведенной работы нами разработано новое комплексное антибактериальное обезболивающее профилактическое средство на основе бактериофагов в гелевой форме для применения при проведении лечебных и диагностических манипуляций в урологии, а также в жидкой форме и в форме ректальных суппозиторий в терапии у пациентов с хроническим рецидивирующим циститом. Проведенная оценка профиля безопасности и эффективности разработанного средства способствует потенциальному его внедрению в рутинную практику врача-уролога амбулаторного и стационарного звеньев. Полученные результаты работы нашли свое отражение в разработке и производстве наукоемкой фармацевтической продукции, инновационного лекарственного средства отечественного производства, которое при промышленном производстве и массовом применении позволит обеспечить российское здравоохранение высокоэффективным средством для комплексной профилактики и лечения инфекций органов мочевыделительной системы.

Рост числа научных публикаций свидетельствует, что научное и техническое понимание фаговой терапии постоянно расширяется и, учитывая растущую потребность в использовании каких-либо лекарственных средств, помимо антибиотиков, вполне вероятно, что терапия бактериофагами станет реальностью и будет применяться в широкой клинической практике.

# Рекомендуемая литература

1. Козлов Р.С., Голуб А.В. Проблема антибиотикорезистентности в России и пути ее решения. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия* 2019;21(4):310–5. DOI: 10.36488/cmhc.2019.4.310-315.
2. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. Available at: [https://amr-review.org/sites/default/files/160525\\_Final%20paper\\_with%20cover.pdf](https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf)
3. World Health Organization. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. Geneva: WHO Press; 2017.
4. Sybesma W., Rohde C., Bardy P. et al. Expert round table on acceptance and re-implementation of bacteriophage therapy, Silk Route to the Acceptance and Re-Implementation of Bacteriophage Therapy-Part II. *Antibiotics (Basel)* 2018;7(2):35. DOI: 10.3390/antibiotics7020035.
5. Bruynoghe R., Maisin J. Essais de the rapeutique au moyen du bacteriophage. *C R SocBiol* 1921;85:1120–1.
6. Ширяев А.А., Васильев А.О., Зайцев А.В., Прилепская Е.А., Сазонова Н.А., Григорян И.Э., Ким Ю.А., Пушкарь Д.Ю. Перспектива применения бактериофагов в урологической практике. *Урология* 2019;6:131–6. DOI: 10.18565/urology.2019.6.131-136.
7. Muhsin Jamal, Sayed MAUS Bukhari, Saadia Andleeb et al. Bacteriophages: an overview of the control strategies against multiple bacterial infections in different fields. *J Basic Microbiol* 2019;59(2):123–33. DOI: 10.1002/jobm.201800412.
8. Aswani V.H., Shukla S.K. An early history of phage therapy in the United States: is it time to reconsider? *Clin Med Res* 2021;19(2):82–9. DOI: 10.3121/cmr.2021.1605.
9. Wei H. Bacteriophages, revitalized after 100 years in the shadow of antibiotics. *Virol Sin* 2015;30(1):1–2. DOI: 10.1007/s12250-014-3562-y.
10. Ho K. Bacteriophage therapy for bacterial infections. Rekindling a memory from the pre-antibiotics era. *Perspect Biol Med* 2001;44(1):1–16. DOI: 10.1353/pbm.2001.0006.
11. Storms Z.J., Brown T., Cooper D.G. et al. Impact of the cell life-cycle on bacteriophage T4 infection. *FEMS Microbiol Lett* 2014;353(1):63–8. DOI: 10.1111/1574-6968.12402.
12. Yap M.L., Rossmann M.G. Structure and function of bacteriophage T4. *Future Microbiol* 2014;9(12):1319–27. DOI: 10.2217/fmb.1491.
13. Kasman L.M., Porter L.D. Bacteriophages. 2021 Sep 28. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022.
14. Grice E.A., Segre J.A. The human microbiome: our second genome. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2012;13:151–70. DOI: 10.1146/annurev-genom-090711-163814.
15. Lee K.W., Song H.Y., Kim Y.H. The microbiome in urological diseases. *Investig Clin Urol* 2020;61(4):338–48. DOI: 10.4111/icu.2020.61.4.338.

16. Whiteside S.A., Razvi H., Dave S. et al. The microbiome of the urinary tract – a role beyond infection. *Nat Rev Urol* 2015;12:81–90. DOI: 10.1038/nrurol.2014.361.
17. Pearce M.M., Hilt E.E., Rosenfeld A.B. et al. The female urinary microbiome: a comparison of women with and without urgency urinary incontinence. *mBio* 2014;5:e01283-14. DOI: 10.1128/mBio.01283-14.
18. Thomas-White K.J., Hilt E.E., Fok C. et al. Incontinence medication response relates to the female urinary microbiota. *Int Urogynecol J* 2016;27(5):723–33. DOI: 10.1007/s00192-015-2847-x.
19. Hilt E.E., McKinley K., Pearce M.M. et al. Urine is not sterile: use of enhanced urine culture techniques to detect resident bacterial flora in the adult female bladder. *J Clin Microbiol* 2014;52(3):871–6. DOI: 10.1128/JCM.02876-13.
20. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012;486(7402):207–14. DOI: 10.1038/nature 11234.
21. Caini S., Gandini S., Dudas M. et al. Sexually transmitted infections and prostate cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Epidemiol* 2014;38(4): 329–38. DOI: 10.1016/j.canep.2014.06.002.
22. Pühr M., De Marzo A., Isaacs W. et al. Inflammation, microbiota, and prostate cancer. *Eur Urol Focus* 2016;2(4):374–82. DOI: 10.1016/j.euf.2016.08.010.
23. Alfano M., Canducci F., Nebuloni M. et al. The interplay of extracellular matrix and microbiome in urothelial bladder cancer. *Nat Rev Urol* 2016;13(2):77–90. DOI: 10.1038/nrurol.2015.292.
24. Kiraly O., Gong G., Olipitz W. et al. Inflammation-induced cell proliferation potentiates DNA damage-induced mutations *in vivo*. *PLoS Genet* 2015;11(2): e1004901. DOI: 10.1371/journal.pgen.1004901.
25. Berndt A., Richter P., Kosmehl H., Franz M. Tenascin-C and carcinoma cell invasion in oral and urinary bladder cancer. *Cell Adh Migr* 2015;9(1–2):105–11. DOI: 10.1080/19336918.2015.1005463.
26. Zaghoul M.S. Bladder cancer and schistosomiasis. *J Egypt Natl Canc Inst* 2012; 24(4):151–9. DOI: 10.1016/j.jnci.2012.08.002.
27. Mostafa M.H., Sheweita S.A., O'Connor P.J. Relationship between schistosomiasis and bladder cancer. *Clin Microbiol Rev* 1999;12(1):97–111. DOI: 10.1128/CMR.12.1.97.
28. Naito S., Koga H., Yamaguchi A. et al.; Kyushu University Urological Oncology Group. Prevention of recurrence with epirubicin and lactobacillus casei after transurethral resection of bladder cancer. *J Urol* 2008;179(2):485–90. DOI: 10.1016/j.juro.2007.09.031.
29. Nagao F., Nakayama M., Muto T., Okumura K. Effects of a fermented milk drink containing *Lactobacillus casei* strain Shirota on the immune system in healthy human subjects. *Biosci Biotechnol Biochem* 2000;64(12):2706–8. DOI: 10.1271/bbb.64.2706. PMID: 11210142.
30. Shoskes D.A., Altemus J., Polackwich A.S. et al. The urinary microbiome differs significantly between patients with chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome and controls as well as between patients with different clinical phenotypes. *Urology* 2016;92:26–32. DOI: 10.1016/j.urology.2016.02.043.

31. Shoskes D.A., Wang H., Polackwich A.S. et al. Analysis of gut microbiome reveals significant differences between men with chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome and controls. *J Urol* 2016;196(2):435–41. DOI: 10.1016/j.juro.2016.02.2959.
32. Siddiqui H., Lagesen K., Nederbragt A.J. et al. Alterations of microbiota in urine from women with interstitial cystitis. *BMC Microbiol* 2012;12:205. DOI: 10.1186/1471-2180-12-205.
33. Fok C.S., Gao X., Lin H. et al. Urinary symptoms are associated with certain urinary microbes in urogynecologic surgical patients. *Int Urogynecol J* 2018;29(12):1765–71. DOI: 10.1007/s00192-018-3732-1.
34. Pearce M.M., Hilt E.E., Rosenfeld A.B. et al. The female urinary microbiome: a comparison of women with and without urgency urinary incontinence. *mBio* 2014; 5(4):e01283–14. DOI: 10.1128/mBio.01283-14.
35. Thomas-White K.J., Hilt E.E., Fok C. et al. Incontinence medication response relates to the female urinary microbiota. *Int Urogynecol J* 2016;27(5):723–33. DOI: 10.1007/s00192-015-2847-x.
36. Thomas-White K.J., Kliethermes S., Rickey L. et al.; National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Urinary Incontinence Treatment Network. Evaluation of the urinary microbiota of women with uncomplicated stress urinary incontinence. *Am J Obstet Gynecol* 2017;216(1):55.e1–55.e16. DOI: 10.1016/j.ajog.2016.07.049.
37. Stern J.M., Moazami S., Qiu Y. et al. Evidence for a distinct gut microbiome in kidney stone formers compared to non-stone formers. *Urolithiasis* 2016;44(5):399–407. DOI: 10.1007/s00240-016-0882-9.
38. Tang R., Jiang Y., Tan A. et al. 16S rRNA gene sequencing reveals altered composition of gut microbiota in individuals with kidney stones. *Urolithiasis* 2018;46(6):503–14. DOI: 10.1007/s00240-018-1037-y.
39. Flores-Mireles A.L., Walker J.N., Caparon M., Hultgren S.J. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol* 2015;13(5):269–84. DOI: 10.1038/nrmicro3432.
40. Horwitz D., McCue T., Mapes A.C. et al. Decreased microbiota diversity associated with urinary tract infection in a trial of bacterial interference. *J Infect* 2015; 71(3):358–67. DOI: 10.1016/j.jinf.2015.05.014.
41. Reid G., Bruce A.W. Probiotics to prevent urinary tract infections: the rationale and evidence. *World J Urol* 2006;24(1):28–32. DOI: 10.1007/s00345-005-0043-1. Epub 2005 Dec 31.
42. Reid G., Charbonneau D., Erb J. et al. Oral use of *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *L. fermentum* RC-14 significantly alters vaginal flora: randomized, placebo-controlled trial in 64 healthy women. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2003; 35(2):131–4. DOI: 10.1016/S0928-8244(02)00465-0.
43. Malki K., Sible E., Cooper A. et al. Seven bacteriophages isolated from the female urinary microbiota. *Genome Announc* 2016;4(6):e01003–16. DOI: 10.1128/genomeA.01003-16.
44. Dhar D., Mohanty A. Gut microbiota and Covid-19-possible link and implications. *Virus Res* 2020;285:198018. DOI: 10.1016/j.virusres.2020.198018.

45. Khatiwada S., Subedi A. Lung microbiome and coronavirus disease 2019 (COVID-19): Possible link and implications. *Hum Microb J* 2020;17:100073. DOI: 10.1016/j.humic.2020.100073.
46. Oechslin F. Resistance development to bacteriophages occurring during bacteriophage therapy. *Viruses* 2018;10(7):351. DOI: 10.3390/v10070351.
47. Servick K. DRUG DEVELOPMENT. Beleaguered phage therapy trial presses on. *Science* 2016;352(6293):1506. DOI: 10.1126/science.352.6293.1506.
48. Ujmajuridze A., Chanishvili N., Goderdzishvili M. et al. Adapted bacteriophages for treating urinary tract infections. *Front Microbiol* 2018;9:1832. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01832.
49. O'Neill J. Antimicrobial Resistance: Tackling a Crisis for the Health and Wealth of Nations. *The Review on Antimicrobial Resistance* 2014;20:1–16. [http://www.jpia.mr.eu/wp-content/uploads/2014/12/AMR-Review-Paper-Tackling-a-crisis-for-the-health-and-wealth-of-nations\\_1-2.pdf](http://www.jpia.mr.eu/wp-content/uploads/2014/12/AMR-Review-Paper-Tackling-a-crisis-for-the-health-and-wealth-of-nations_1-2.pdf).
50. Davies J., Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol Mol Biol Rev* 2010;74(3):417–33. DOI: 10.1128/MMBR.00016-10.
51. Ventola C.L. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *P T* 2015; 40(4):277–83. PMID: 25859123. PMCID: PMC4378521.
52. Institute of Medicine Forum on Microbial Threats. Antibiotic resistance: implications for global health and novel intervention strategies: workshop summary. Washington (DC): National Academies Press (US), 2010. DOI: 10.17226/12925.
53. Luepke K.H., Mohr J.F. 3rd. The antibiotic pipeline: reviving research and development and speeding drugs to market. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2017; 15(5):425–33. DOI: 10.1080/14787210.2017.1308251. Epub 2017 Mar 29. Erratum in: *Expert Rev Anti Infect Ther* 2017;15(8):805. DOI: 10.1080/14787210.2017.1358541.
54. Magiorakos A.P., Srinivasan A., Carey R.B. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18(3):268–81. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x.
55. Pendleton J.N., Gorman S.P., Gilmore B.F. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2013;11(3):297–308. DOI: 10.1586/eri.13.12.
56. Fleming V., Buck B., Nix N. et al. Community-acquired pneumonia with risk for drug-resistant pathogens. *South Med J* 2013;106(3):209–16. DOI: 10.1097/SMJ.0b013e318287fe71.
57. Doron S., Davidson L.E. Antimicrobial stewardship. *Mayo Clin Proc* 2011; 86(11): 1113–23. DOI: 10.4065/mcp.2011.0358.
58. Furfaro L.L., Payne M.S., Chang B.J. Bacteriophage therapy: clinical trials and regulatory hurdles. *Front Cell Infect Microbiol* 2018;8:376. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00376.
59. Soothill J.S. Treatment of experimental infections of mice with bacteriophages. *J Med Microbiol* 1992;37:258–61. DOI: 10.1099/00222615-37-4-258.
60. Schooley R.T., Biswas B., Gill J.J. et al. Development and use of personalized bacteriophage-based therapeutic cocktails to treat a patient with a disseminated

- resistant acinetobacter baumannii infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 61(10):e00954–17. DOI: 10.1128/AAC.00954-17.
61. Bertoye A., Gaillard L., Courtieu A.L. Les bactériophages adaptés dans le traitement des infections à germes résistant aux antibiotiques [Adapted bacteriophages in the treatment of infections caused by antibiotic-resistant microorganisms]. *J Med Lyon* 1959;40(945):465–71. PMID: 13655000.
  62. Soothill J. Use of bacteriophages in the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2013;11(9):909–15. DOI: 10.1586/14787210.2013.826990.
  63. Forti F., Roach D.R., Cafora M. et al. Design of a broad-range bacteriophage cocktail that reduces *pseudomonas aeruginosa* biofilms and treats acute infections in two animal models. *Antimicrob Agents Chemother* 2018;62(6):e02573–17. DOI: 10.1128/AAC.02573-17.
  64. Fong S.A., Drilling A., Morales S. et al. Activity of bacteriophages in removing biofilms of *pseudomonas aeruginosa* isolates from chronic rhinosinusitis patients. *Front Cell Infect Microbiol* 2017;7:418. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00418.
  65. Tacconelli E., Carrara E., Savoldi A. et al.; WHO Pathogens Priority List Working Group. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect Dis* 2018;18(3): 318–27. DOI: 10.1016/S1473-3099(17)30753-3.
  66. Tkhilaishvili T., Di Luca M., Abbandonato G. et al. Real-time assessment of bacteriophage T3-derived antimicrobial activity against planktonic and biofilm-embedded *Escherichia coli* by isothermal microcalorimetry. *Res Microbiol* 2018; 169(9):515–21. DOI: 10.1016/j.resmic.2018.05.010.
  67. Vahedi A., Soltan Dallal M.M., Douraghi M. et al. Isolation and identification of specific bacteriophage against enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) and *in vitro* and *in vivo* characterization of bacteriophage. *FEMS Microbiol Lett* 2018; 365(16):fny136. DOI: 10.1093/femsle/fny136.
  68. Marrie T.J., Nelligan J., Costerton J.W. A scanning and transmission electron microscopic study of an infected endocardial pacemaker lead. *Circulation* 1982; 66(6):1339–41. DOI: 10.1161/01.cir.66.6.1339.
  69. Del Pozo J.L. Biofilm-related disease. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2018;16(1):51–65. DOI: 10.1080/14787210.2018.1417036.
  70. Перепанова Т.С. Значение инфекций, обусловленных образованием биопленок, в урологической практике. Эффективная фармакотерапия 2013;37:18–27.
  71. Tenke P., Köves B., Nagy K. et al. Update on biofilm infections in the urinary tract. *World J Urol* 2012;30(1):51–7. DOI: 10.1007/s00345-011-0689-9.
  72. Lebeaux D., Ghigo J.M., Beloin C. Biofilm-Related Infections: bridging the gap between clinical management and fundamental aspects of recalcitrance toward antibiotics. *Microbiol Mol Biol Rev* 2014;78(3):510–43. DOI: 10.1128/MMBR.00013-14.

73. Magana M., Sereti C., Ioannidis A. et al. Options and limitations in clinical investigation of bacterial biofilms. *Clin Microbiol Rev* 2018;31(3):e00084-16. DOI: 10.1128/CMR.00084-16.
74. Mlynek K.D., Callahan M.T., Shimkevitch A.V. et al. Effects of low-dose Amoxicillin on *Staphylococcus aureus* USA300 biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2016;60(5): 2639–51. DOI: 10.1128/AAC.02070-15.
75. Ramachandra M., Mosayyebi A., Carugo D. et al. Strategies to improve patient outcomes and QOL: current complications of the design and placements of ureteric stents. *Res Rep Urol* 2020;12:303–314. DOI: 10.2147/RRU.S233981.
76. Algburi A., Comito N., Kashtanov D. et al. Control of biofilm formation: antibiotics and beyond. *Appl Environ Microbiol* 2017;83(3):e02508-16. DOI: 10.1128/AEM.02508-16.
77. Harper D.R., Parracho H.M., Walker J. et al. Bacteriophages and biofilms. *Antibiotics* 2014;3:270–84. DOI: 10.3390/antibiotics3030270.
78. Shariati A., Azimi T., Ardebili A. et al. Insertional inactivation of *oprD* in carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients in Tehran Iran. *New Microbes New Infect* 2017;21:75–80. DOI: 10.1016/j.nmni.2017.10.013.
79. Fajardo A., Martínez-Martín N., Mercadillo M. et al. The neglected intrinsic resistome of bacterial pathogens. *PLoS ONE* 2008;3(2):e1619. DOI: 10.1371/journal.pone.0001619.
80. Yan J., Mao J., Xie J. Bacteriophage polysaccharide depolymerases and biomedical applications. *BioDrugs* 2014;28(3):265–74. DOI: 10.1007/s40259-013-0081-y.
81. Hall A.R., De Vos D., Friman V.-P. et al. Effects of sequential and simultaneous applications of bacteriophages on populations of *Pseudomonas aeruginosa* *in vitro* and in wax moth larvae. *Appl Environ Microbiol* 2012;78(16):5646–52. DOI: 10.1128/AEM.00757-12.
82. Hanlon G.W. Bacteriophages: an appraisal of their role in the treatment of bacterial infections. *Int J Antimicrob Agents* 2007;30(2):118–28. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2007.04.006.
83. Briers Y., Schmelcher M., Loessner M.J. et al. The high-affinity peptidoglycan binding domain of *Pseudomonas* phage endolysin KZ144. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;383(2):187–91. DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.03.161.
84. Hraiech S., Bregeon F., Rolain J.-M. Bacteriophage-based therapy in cystic fibrosis-associated *Pseudomonas aeruginosa* infections: rationale and current status. *Drug Design Dev Ther* 2015;9:3653. DOI: 10.2147/DDDT.S53123.
85. Pei R., Lamas-Samanamud G.R. Inhibition of biofilm formation by T7 bacteriophages producing quorum-quenching enzymes. *Appl Environ Microbiol* 2014;80(17):5340–48. DOI: 10.1128/AEM.01434-14.
86. Ceri H., Olson M.E., Stremick C. et al. The Calgary biofilm device: new technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. *J Clin Microbiol* 1999;37(6):1771–6. DOI: 10.1128/JCM.37.6.1771-1776.1999.
87. Chegini Z., Khoshbayan A., Taati Moghadam M. et al. Bacteriophage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: a review. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2020;19(1):45. DOI: 10.1186/s12941-020-00389-5.

88. Перепанова Т.С. Комплексное лечение и профилактика госпитальной инфекции мочевых путей: дис. ... д-р мед. наук. М., 1996. 199 с.
89. Зоркин С.Н., Шахновский Д.С. Возможности бактериофаготерапии при лечении больных с осложненной инфекцией мочевых путей. *Педиатрическая фармакология* 2013;10(4):132–8.
90. Прокопенко Е.И., Щербаква Е.О., Ватазин А.В., Будникова Н.Е. Применение бактериофага для лечения гнойно-септических осложнений у больной с почечным аллотрансплантатом. *Урология* 2005;6:43–6.
91. Sybesma W., Zbinden R., Chanishvili N. et al. Bacteriophages as Potential Treatment for Urinary Tract Infections. *Front Microbiol* 2016;7:465. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00465.
92. Ujmajuridze A., Chanishvili N., Goderdzishvili M. et al. Adapted bacteriophages for treating urinary tract infections. *Front Microbiol* 2018;9:1832. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01832. PMID: 30131795; PMCID: PMC6090023.
93. Leitner L., Sybesma W., Chanishvili N. et al. Bacteriophages for treating urinary tract infections in patients undergoing transurethral resection of the prostate: a randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial. *BMC Urol* 2017;17(1):90. DOI: 10.1186/s12894-017-0283-6.
94. Leitner L., Kessler T.M., Klumpp J. Bacteriophages: a panacea in neuro-urology? *Eur Urol Focus* 2020;6(3):518–21. DOI: 10.1016/j.euf.2019.10.018.
95. Васильев А.О., Сазонова Н.А., Мельников В.Д., Габдуллин А.Ф., Зайцев А.В., Ширяев А.А., Ким Ю.А., Прилепская Е.А., Пушкарь Д.Ю. Опыт применения комплексного антибактериального и обезболивающего препарата на основе бактериофагов в гелевой форме у женщин, перенесших различные инструментальные и лечебно-диагностические манипуляции. *Гинекология* 2020; 2(3):42–8. DOI: 10.26442/20795696.2020.3.200199.
96. Зайцев А.В., Арефьева О.А., Сазонова Н.А., Мельников В.Д., Ким Ю.А., Ширяев А.А., Васильев А.О., Грицков И.О., Говоров А.В., Пушкарь Д.Ю. Результаты клинического исследования эффективности и безопасности препарата для внутрипузырного введения на основе бактериофагов в терапии у пациентов с хроническим рецидивирующим циститом. *Гинекология* 2021;23(6):578–85. DOI: 10.26442/20795696.2021.6.201286.
97. Kiro R., Shitrit D., Qimron U. Efficient engineering of a bacteriophage genome using the type I-E CRISPR-Cas system. *RNA Biol* 2014;11(1):42–4. DOI: 10.4161/rna.27766.
98. Bari S.M.N., Walker F.C., Cater K. et al. Strategies for editing virulent staphylococcal phages using CRISPR-Cas10. *ACS Synth Biol* 2017;6(12):2316–25. DOI: 10.1021/acssynbio.7b00240.
99. Fagen J.R., Collias D., Singh A.K., Beisel C.L. Advancing the design and delivery of CRISPR antimicrobials. *Curr Opin Biomed Eng* 2017;4:57–64. DOI: 10.1016/j.cobme.2017.10.001.



*Методические рекомендации*

**Зайцев** Андрей Владимирович, **Зурабов** Александр Юрьевич,  
**Говоров** Александр Викторович и др.

# Бактериофаги в урологии

Редактор-корректор: *Е.В. Головина*

Дизайн: *Е.В. Степанова*

Верстка: *О.В. Гончарук*

Подписано в печать 07.04.2022.

Формат 148 × 210 мм

Гарнитура GaramondNarrowC

Печать офсетная.

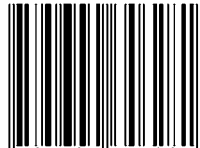
Тираж 1000 экз.

Отпечатано в типографии ООО «Юнион Принт».

Заказ № 220615

ООО «Издательский дом «АБВ-пресс»  
109443, Москва, Каширское ш., 24, стр. 15  
Тел./факс: +7 (499) 929-96-19  
E-mail: [abv@abvpress.ru](mailto:abv@abvpress.ru)  
[www.abvpress.ru](http://www.abvpress.ru)

ISBN 978-5-6046462-8-1



9 785604 646281