

Разработка фармакопейных стандартов качества на лекарственные препараты — бактериофаги

Т. М. Каргина^{1,*}, Е. И. Саканян², Д. С. Давыдов¹, Р. Л. Парфенюк¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

²Акционерное общество «Научно-производственное объединение
по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген»,
1-я Дубровская ул., д. 15, стр. 2, Москва, 115088, Российская Федерация

Лечебно-профилактические бактериофаги — современные безопасные эффективные лекарственные средства, предназначенные для терапии кишечных инфекций и гнойно-воспалительных заболеваний. Возможность адаптировать вирулентные фаги к антибиотикоустойчивым бактериальным штаммам делает перспективным использование этой группы лекарственных средств при лечении инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Разработка стандартов качества на препараты бактериофагов позволит унифицировать требования к показателям их качества и методам контроля. Необходимо отметить, что в зарубежных фармакопеях монографии на препараты бактериофагов не представлены. В связи с этим весьма актуальной и своевременной стала разработка общих фармакопейных статей (ОФС) на группы методов контроля качества бактериофагов и фармакопейных статей (ФС) на бактериофаги и включение их в Государственную фармакопею Российской Федерации (ГФ РФ). Цель работы — разработка фармакопейных стандартов качества на препараты лечебно-профилактических бактериофагов, зарегистрированные на территории России, для включения в Государственную фармакопею Российской Федерации. В результате анализа ФС предприятий и технологических регламентов на лечебно-профилактические препараты бактериофагов, выпускаемые в Российской Федерации, были выявлены единые технологические этапы производства препаратов бактериофагов в соответствии с требованиями GMP, критерии подбора штаммов бактериофагов и производственных штаммов бактерий, определены условия их культивирования и хранения, стандартизированы показатели качества бактериофагов, методы определения которых приведены в соответствии с методиками ГФ РФ XIV изд. Приведены методы определения подлинности и специфической активности бактериофагов. Основные положения этой работы вошли в ОФС Бактериофаги и ФС на отдельные препараты бактериофагов, которые были включены в действующую ГФ РФ. Дальнейшие исследования и разработка новых стандартов качества на моно- и комплексные препараты бактериофагов, а также успешное применение их в медицинской практике повысят эффективность профилактики и лечения различных инфекционных заболеваний.

Ключевые слова: бактериофаги; лекарственные препараты; общая фармакопейная статья; фармакопейная статья; методы испытания; показатели качества

Для цитирования: Каргина ТМ, Саканян ЕИ, Давыдов ДС, Парфенюк РЛ. Разработка фармакопейных стандартов качества на лекарственные препараты — бактериофаги. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2019;19(4):233–241. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-4-233-241>

***Контактное лицо:** Каргина Татьяна Михайловна; Kargina@expmed.ru

Elaboration of Pharmacopoeial Quality Standards for Bacteriophage Products

T. M. Kargina^{1,*}, E. I. Sakanyan², D. S. Davydov¹, R. L. Parfenyuk¹

¹Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

²Scientific and Production Association for
Immunological Preparations «Microgen»,
15/2 1st Dubrovskaya St., Moscow 115088, Russian Federation

Bacteriophages are novel safe and efficacious medicinal products that are used for treatment of intestinal infections and purulent inflammations. The fact that virulent phages can be adapted to fight antibiotic-resistant bacterial strains makes this group of medicines a promising means of treatment of infections associated with medical interventions. The elaboration of quality standards for bacteriophage products will enable alignment of the quality requirements and test methods. There are no monographs on bacteriophage products in pharmacopoeias of other countries, therefore, the development of general chapters on groups of test methods used in bacteriophage quality control and monographs on bacteriophages for the State Pharmacopoeia of the Russian Federation (Ph. Rus.)

was a very relevant and timely initiative. The aim of the study was to elaborate pharmacopoeial quality standards for bacteriophages approved in the Russian Federation for therapeutic and prophylactic indications. The authors of the study analysed product specification files and master production records for bacteriophages produced in the Russian Federation. They determined common GMP-compliant production steps, the selection criteria for bacteriophage strains and bacteria production strains, and cultivation and storage conditions. The authors standardised bacteriophage quality parameters and brought the test methods in line with the test procedures described in the Ph. Rus., 14th ed. The study summarised test methods used for identification of bacteriophages and determination of their specific activity. The main results of the study were included into the general monograph «Bacteriophages» and individual monographs on bacteriophage products that were included into the current edition of the Ph. Rus. Further studies and elaboration of new quality standards for mono- and multicomponent bacteriophage products, and the use of such products in clinical practice will improve prophylaxis and treatment of various infectious diseases.

Key words: bacteriophages; medicinal products; general chapter; general monograph; monograph; test methods; quality parameters

For citation: Kargina TM, Sakanyan EI, Davydov DS, Parfenyuk RL. Elaboration of pharmacopoeial quality standards for bacteriophage products. *BIOPreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOPreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2019;19(4):233–241. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-4-233-241>

***Corresponding author:** Tatyana M. Kargina; Kargina@expmed.ru

Успешный опыт многолетнего использования лечебно-профилактических бактериофагов, огромный практический интерес к созданию новых лекарственных форм и лекарственных препаратов, активных в отношении новых клинически значимых видов условно-патогенных микроорганизмов, привели к необходимости создания нормативных документов, имеющих государственный статус и являющихся обязательными для производства и применения этой группы лекарственных препаратов на территории Российской Федерации.

Качество, безопасность и эффективность — основные требования, которые предъявляются к любому зарегистрированному лекарственному средству. Государственная фармакопея Российской Федерации (ГФ РФ) служит основным документом, содержащим совокупность методов анализа (физических, химических, биологических и т. д.), позволяющих установить качество лекарственного средства в соответствии с областью его применения.

Цель работы — разработка фармакопейных стандартов качества на препараты лечебно-профилактических бактериофагов, зарегистрированные на территории Российской Федерации, для последующего включения в Государственную фармакопею Российской Федерации.

Активное использование антибиотикотерапии привело к формированию у бактерий, возбудителей инфекционных заболеваний, резистентности к различным группам антибиотиков. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) считает антибиотикорезистентность одной из главных проблем XXI века в связи с тем, что для лечения большинства инфекционных заболеваний применение медикаментозной терапии станет невозможным¹.

Открытие биопленок как способа существования бактериального сообщества, дающего значительные микробиологические преимущества в выживании бактерий и часто являющегося причиной развития инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, приводит к необходимости использования в терапии бактериальных инфекций всей совокупности известных антибактериальных агентов: антибиотиков, бактериофагов, антисептиков [1–6].

Одной из важных составляющих в борьбе с антибиотикоустойчивыми возбудителями инфекционных заболеваний является фаготерапия [7, 8].

Фаготерапия как направление в лечении кишечных и гнойно-септических инфекций возникла более 100 лет назад, после того как канадский ученый Феликс Д'Эррель не только описал явление «бактериофагии», но и применил дизентерийные и холерные фаги в лечении больных².

1920–1940 гг. в Европе и в Советском Союзе характеризовались интенсивным изучением природы бактериофагов, многочисленными экспериментальными исследованиями на лабораторных животных и первыми опытами применения бактериофагов при лечении инфекционных болезней у людей³.

В СССР начиная с 1930-х годов проводили клинические исследования эффективности профилактического и терапевтического использования дизентерийного и брюшнотифозного бактериофагов⁴. Отработывали оптимальные способы введения бактериофагов, дозировку и кратность применения, условия проведения массовой профилактики среди населения в эпидемических очагах. В результате этих исследований дизентерийный бактериофаг был признан эффективным противозидемическим средством и рекомендован для широкого профилактического использования⁵. В начале 1940-х годов были получены бактериофаги против основных возбудителей хирургических инфекций — стафилококков, стрептококков, кишечной палочки, протей и синегнойной палочки. Препараты бактериофагов, так называемые «раневые фаги», успешно использовали во время Великой Отечественной войны при лечении хирургических гнойных ран и послеоперационных осложнений, а применение анаэробных бактериофагов позволило снизить в 2,5 раза летальность от газовой гангрены [9–11].

После окончания Великой Отечественной войны в СССР было налажено промышленное производство лечебно-профилактических бактериофагов. В 1949 году президиумом Ученого медицинского совета Минздрава СССР были утверждены Инструкции по изготовлению и контролю жидких дизентерийного и брюшнотифозного бактериофагов. В Инструкциях были введены понятия маточные бактериофаги и коллекционные

¹ Устойчивость к антибиотикам. ВОЗ. <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>

² д'Эррель Ф. Бактериофаг и феномен выздоровления. Тифлис; 1935.

³ Сутин И.А. Бактериофаги и их применение в медицинской практике. Сталинград: Областное книгоиздательство; 1947.

⁴ Александров МБ, Дьякова АА, Райхельсон ЗА, Мельник ЕГ. Бактериофаготерапия брюшного тифа. Межинститутская конференция по бактериофагу. 21–25 декабря 1940 г. М.: 1940.

⁵ Мельник МИ, Хастович РИ. Бактериофаг при дизентерии. М.: Государственное медицинское издательство; 1935.

штаммы бактерий; сформулированы основные критерии, по которым осуществляется подбор фагов и бактериальных штаммов; указаны основные производственные этапы при изготовлении препаратов; обозначены условия культивирования и фильтрации; рекомендованы питательные среды; установлены сроки годности и режим хранения препаратов; определены основные качественные характеристики препаратов: стерильность, безвредность, литическая активность и описаны методы их определения.

В 1960–1970-х гг., когда на фоне успехов антибиотикотерапии в Европе и в странах Северной Америки от использования бактериофагов полностью отказались, в Советском Союзе продолжали вести активную научно-исследовательскую работу, направленную на улучшение качества дизентерийного и сальмонеллезного бактериофагов, усиления их вирулентности, расширения диапазона литической активности. Впервые был предложен метод лечения адаптированным бактериофагом, приготовленным с использованием клинических штаммов, проявляющих слабую чувствительность или резистентность к бактериофагу [12, 13]. В городах Горьком и Уфе на предприятиях были разработаны таблетированные формы дизентерийного, брюшнотифозного и сальмонеллезного бактериофагов.

В 1980–1990 годы область применения бактериофагов была расширена. В связи с ростом частоты и тяжести послеоперационных осложнений в форме сочетанных инфекций комплексной бактериальной этиологии большую востребованность приобрели комбинированные препараты, состоящие из бактериофагов, активных в отношении бактерий различных таксономических групп (стафилококки, стрептококки, кишечная палочка, протей, синегнойная палочка, клебсиелла). На предприятиях г. Уфы (ГУП «Иммунопрепарат», ДП «Биофаг») разработали, а затем наладили выпуск поливалентного и комбинированного. В это время проводились исследования по созданию новых лекарственных форм на основе известных бактериофагов клебсиелл и стафилококков (линименты, суппозитории, таблетки).

В связи с проблемой формирования у возбудителей инфекционных болезней устойчивости к большинству используемых в терапии антибиотиков здравоохранение все чаще обращается к фаготерапии, используя препараты бактериофагов как средства монотерапии или в комплексе с другими антимикробными средствами.

Бактериофаги находят успешное применение в акушерстве и гинекологии, педиатрии и урологии, в хирургии при лечении послеоперационных инфицированных ран [14–18]. В сочетании с другими антимикробными препаратами бактериофаги использовали у больных с ожоговыми ранами и у онкологических больных для профилактики и лечения инфекционных осложнений после операций [19, 20]. Высокая клиническая эффективность фаготерапии достигалась при применении адаптированных к условиям данного стационара бактериофагов [21, 22].

Бактериофаги представляют собой вирусы, которые являются специфическими инфекционными агентами бактерий. Они лишены клеточного строения и состоят только из генетического материала (ДНК или РНК), заключенного в белковую или липопротеиновую оболочку. Являясь внутриклеточными паразитами, они используют клетки бактерий для количественного воспроизведения. По характеру взаимодействия с бактериями фаги бывают умеренными и литическими (вирулентными). Умеренные фаги, проникая в бактериальную клетку, либо лизируют ее, либо вызывают состояние лизогении, при котором фаговый геном, встраиваясь в бактериальный геном

или присутствуя в виде плазмиды, передается последующим поколениям бактериальной клетки в процессе деления [23]. При существовании подобных симбиотических форм на протяжении длительного времени фаги могут придавать бактериям новые свойства.

Литические (вирулентные) фаги вызывают необратимые структурные изменения в бактериальной клетке, используя ее синтетический аппарат для воспроизведения собственных белковых структурных образований и генома. В результате формирования новых фаговых частиц происходит гибель и разрушение бактерии. Вышедшие фаговые частицы повторяют цикл развития на других бактериальных клетках, вызывая лизис культуры.

Среди преимуществ использования бактериофагов в лечебно-профилактических целях по сравнению с антибиотиками следует отметить следующие:

- бактериофаги специфичны, то есть их литическая активность проявляется в отношении определенного вида или рода микроорганизмов;
- бактериофаги часто высокоактивны в отношении бактерий, обладающих устойчивостью к антибиотикам;
- бактериофаги свободно проникают в ткани организма человека и животного;
- результаты исследований бактериофагов *in vivo*, длительная практика их клинического применения указывают на незначительное количество возможных нежелательных реакций;
- бактериофаги не вызывают побочных эффектов, не подавляют рост индигенной симбиотической микрофлоры, не ослабляют иммунитет;
- противопоказанием к медицинскому применению бактериофагов служит только индивидуальная непереносимость компонентов лекарственного препарата;
- бактериофаги могут применяться у пациентов любого возраста [24].

Таким образом, бактериофаги повреждают лишь определенные бактериальные клетки, не нарушая при этом естественный биоценоз различных систем организма. В связи с этим бактериофаги являются весьма успешной альтернативой антибиотикам.

Исторически сложилось, что СССР занимал лидирующие позиции в области производства и применения лечебно-профилактических бактериофагов. Отечественное производство бактериофагов и до настоящего времени базируется на следующих критериях:

- препараты должны включать только вирулентные бактериофаги;
- фаги, входящие в препарат, должны обладать высокими показателями активности репликации;
- фаги, входящие в препарат, должны сохранять литическую активность при длительном хранении;
- фаги, входящие в препарат, не должны взаимодействовать с представителями облигатной симбиотической микробиоты человека [25].

В настоящее время отечественная медицинская промышленность производит лекарственные препараты бактериофагов, предназначенные для борьбы с инфекционными заболеваниями, вызванными патогенными и условно-патогенными возбудителями. Эти препараты представляют собой стерильные фильтраты фаголизатов соответствующих видов бактерий, очищенные от эндо- и экзотоксинов, продуктов фаголизиса бактериальных клеток, а также их антигенных комплексов и компонентов питательных сред. Главным условием клинической эффективности при назначении бактериофагов является

фагочувствительность бактерий-возбудителей. Современные лечебно-профилактические бактериофаги представляют собой комплекс поликлональных бактериальных вирусов, обладающих высокой литической активностью в отношении наиболее эпидемиологически значимых групп возбудителей бактериальных инфекций (бактерий сем. *Enterobacteriaceae*, родов *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas* и пр.) [26].

На фармацевтическом рынке Российской Федерации находятся в обращении 16 наименований зарегистрированных лекарственных препаратов бактериофагов, выпускаемых в виде растворов и таблеток⁶. Продолжается разработка новых лекарственных форм известных наименований бактериофагов.

Поскольку фаготерапия признается перспективным направлением в лечении инфекций, вызываемых антибиотикорезистентными штаммами бактерий, а также рассматривается в комплексе мер по предотвращению возникновения биопленок при терапии инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, проводится активный научный поиск в области разработки новых препаратов. Ведутся работы по выделению новых бактериофагов к возбудителям инфекционных заболеваний таких родов, как *Serratia*, *Acinetobacter*, *Enterobacter* [27].

Таким образом, весьма актуальным и своевременным является совершенствование системы стандартизации и оценки качества данной группы биологических препаратов путем разработки и включения соответствующих общих фармакопейных статей (ОФС) и фармакопейных статей (ФС), регламентирующих требования к их качеству и методам анализа, в ГФ РФ. Актуальность и необходимость данной работы подтверждается тем, что в зарубежных фармакопеях монографии по препаратам бактериофагов не представлены [28–30].

Первая и единственная ФС Бактериофаг дизентерийный была включена в Государственную фармакопею СССР VIII изд. (1946 г.). В настоящее время препараты бактериофагов используются в России и странах Евразийского экономического союза для лечения и профилактики гнойно-септических и кишечных инфекций, а также в диагностических целях для индикации, видового и внутривидового дифференцирования бактерий⁷. Использование бактериофагов предусмотрено «Комплексной программой развития биотехнологий в Российской Федерации на период до 2020 года».

В ГФ РФ XIV изд. включена ОФС Бактериофаги⁸, которая является базовой для препаратов этой группы. В ОФС Бактериофаги приведены основные требования к порядку производства и требования к качеству лекарственных препаратов бактериофагов, обуславливающих их эффективность и безопасность. В данной ОФС обобщены и систематизированы основные требования к производственному процессу, унифицированы показатели качества в соответствии с областью применения препаратов и утверждены методы их контроля, приведена современная классификация лечебно-профилактических бактериофагов по их специфической направленности, подразделяющихся на монокомпонентные, содержащие вирулентные фаги против одного рода или вида бактерий и комбинированные, содержащие несколько видов монокомпонентных бактериофагов.

В ОФС Бактериофаги в разделе «Производство» уточнены этапы производства, обязательные для всех видов бактериофагов: выделение чистых культур перспективных штаммов бактерий (кандидатов в производственные штаммы бактерий) и вы-

деление вирулентных бактериофагов для пополнения коллекции маточных фагов. Определены требования к производственным штаммам и маточным бактериофагам. В состав маточных бактериофагов должны входить исключительно вирулентные фаги с широким диапазоном действия по отношению к штаммам гомологичного вида бактерий, обладающих высокой активностью, стабильностью лизиса, специфической направленностью антимикробного действия и высокой «урожайностью». Характеризуя вирулентные фаги, при отборе в состав маточных, рекомендуется проводить дополнительные испытания на основе современных молекулярно-биологических методов (электронная микроскопия, полногеномное секвенирование и т.д.). В разделе «Производство» рекомендованы питательные среды для работы с производственными штаммами, а также условия для их хранения, с учетом периодической проверки их культуральных, морфологических, биохимических свойств.

Приведено краткое описание технологического процесса, включающего работу с производственными штаммами, подбор к ним активных фаговых рас, культивирование, очистку фаголизатов методом ультрафильтрации, концентрирование и стерилизующую фильтрацию с последующим розливом и фасовкой. Указаны показатели качества, которые необходимо проверять еще на стадии производства препарата: специфическая активность, pH, стерильность, аномальная токсичность. В ОФС Бактериофаги приведены специфические методы исследования, характеризующие качество лечебно-профилактических бактериофагов: методы определения специфической активности бактериофагов и стабильности лизиса по методу Аппельмана и определение фаговых частиц в 1 мл по методу Грация на плотных питательных средах двухслойным методом.

В разделе «Испытания» перечислены все показатели качества препаратов в соответствии с их лекарственной формой и указаны методы контроля качества в соответствии с утвержденными в ГФ РФ XIV изд. физическими и биологическими методами анализа.

Позднее были разработаны проекты ФС на отдельные препараты бактериофагов с последующим включением их в очередное издание ГФ РФ XIV изд.

В результате впервые были разработаны и включены в ГФ РФ XIV изд. 12 ФС на лечебно-профилактические бактериофаги, из них 3 — ФС на поликомпонентные препараты, представляющие собой комплексы очищенных бактериофагов 6 или 7 различных родов бактерий⁹ (табл. 1).

Дополнительно разработаны еще два проекта ФС: Бактериофаг бактерий сальмонелл групп А, В, С, D, E монокомпонентный, таблетки и Бактериофаг бактерий сальмонелл групп А, В, С, D, E монокомпонентный, раствор для приема внутрь и ректального введения, которые будут включены в очередное издание ГФ РФ.

ФС для бактериофагов состоят из разделов: «Введение», «Производство» и «Испытания». В зависимости от группировочного наименования лекарственного средства раздел «Испытания» помимо стандартизованных показателей качества, соответствующих лекарственной форме препарата и методов контроля, содержит уникальную информацию об условиях проведения испытания по показателю «Специфическая активность».

Показатели качества и методы контроля препаратов бактериофагов представлены в таблице 2.

⁶ <http://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx>

⁷ Правила проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза (утв. решением Совета Евразийской экономической комиссии 03.11.2016 № 89).

⁸ Общая фармакопейная статья 1.7.1.0002.15 Бактериофаги. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2; 2018.

⁹ Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. 2018.

Таблица 1. Перечень фармакопейных статей на лечебно-профилактические бактериофаги, вошедших в Государственную фармакопею Российской Федерации XIV изд.

Table 1. The list of monographs on therapeutic and prophylactic bacteriophages included in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 14th ed.

№ п/п	Название фармакопейной статьи Monograph	Специфическая направленность препарата Specific action of the product
Монокомпонентные Monocomponent products		
1	Бактериофаг бактерий стафилококка монокомпонентный, раствор для приема внутрь, местного и наружного применения Monocomponent anti-Staphylococcus bacteriophage, solution for oral and topical use	<i>Staphylococcus</i> spp. (<i>S. aureus</i>)
2	Бактериофаг бактерий стрептококка монокомпонентный, раствор для приема внутрь, местного и наружного применения Monocomponent anti-Streptococcus bacteriophage, solution for oral and topical use	<i>Streptococcus</i> spp. (в том числе <i>Enterococcus</i> spp.) <i>Streptococcus</i> spp. (including <i>Enterococcus</i> spp.)
3	Бактериофаг бактерий синегнойной палочки монокомпонентный, раствор для приема внутрь, местного и наружного применения Monocomponent anti-Pseudomonas aeruginosa bacteriophage, solution for oral and topical use	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
4	Бактериофаг бактерий кишечной палочки монокомпонентный, раствор для приема внутрь, местного и наружного применения Monocomponent anti-Escherichia coli bacteriophage, solution for oral and topical use	<i>Escherichia coli</i>
5	Бактериофаг бактерий протей, раствор для приема внутрь, местного и наружного применения Anti- <i>Proteus</i> bacteriophage, solution for oral and topical use	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>P. vulgaris</i>
6	Бактериофаг бактерий дизентерии поливалентный, раствор для приема внутрь и ректального введения Polyvalent anti-dysentery bacteriophage, solution for oral and rectal use	<i>Shigella flexneri</i> serotypes 1, 2, 3, 4, 6, <i>S. sonnei</i>
7	Бактериофаг бактерий брюшного тифа, таблетки Anti-typhoid bacteriophage, tablets	<i>Salmonella typhi</i>
8	Бактериофаг бактерий клебсиелл поливалентный, раствор для приема внутрь, местного и наружного применения Polyvalent anti-Klebsiella bacteriophage, solution for oral and topical use	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>K. ozaenae</i> , <i>K. rhinoscleromatis</i>
Комбинированные Multicomponent products		
9	Бактериофаг бактерий кишечной палочки + протей поликомпонентный, раствор для приема внутрь, местного и наружного применения Multicomponent anti- <i>Escherichia coli</i> + <i>Proteus</i> bacteriophage, solution for oral and topical use	<i>E. coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>P. vulgaris</i>
10	Бактериофаг бактерий стафилококка + энтерококка + стрептококка + клебсиелл + кишечной палочки + протей поликомпонентный, раствор для приема внутрь, местного и наружного применения Multicomponent anti- <i>Staphylococcus</i> + <i>Enterococcus</i> + <i>Streptococcus</i> + <i>Pseudomonas aeruginosa</i> + <i>Klebsiella</i> + <i>Escherichia coli</i> + <i>Proteus</i> bacteriophage, solution for oral and topical use	<i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp., <i>Proteus mirabilis</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>K. oxytoca</i>
11	Бактериофаг бактерий стафилококка + стрептококка + протей + синегнойной палочки + клебсиеллы пневмонии + кишечной палочки поликомпонентный, раствор для приема внутрь, местного и наружного применения Multicomponent anti- <i>Staphylococcus</i> + <i>Streptococcus</i> + <i>Proteus</i> + <i>Pseudomonas aeruginosa</i> + <i>Klebsiella pneumoniae</i> + <i>Escherichia coli</i> bacteriophage, solution for oral and topical use	<i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Proteus vulgaris</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>E. coli</i>
12	Бактериофаг бактерий шигелл + сальмонелл + кишечной палочки + протей + энтерококка + стафилококка + синегнойной палочки поликомпонентный, раствор для приема внутрь и ректального введения Multicomponent anti- <i>Shigella</i> + <i>Salmonella</i> + <i>Escherichia coli</i> + <i>Proteus</i> + <i>Enterococcus</i> + <i>Staphylococcus</i> + <i>Pseudomonas aeruginosa</i> bacteriophage, solution for oral and rectal use	<i>Shigella flexneri</i> serotypes 1, 2, 3, 4, 6, <i>S. sonnei</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>S. paratyphi A</i> , <i>S. paratyphi B</i> , <i>S. choleraesuis</i> , <i>S. oranienburg</i> , <i>S. infantis</i> , <i>S. enteritidis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>E. coli</i> , <i>Enterococcus</i> spp., <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Таблица 2. Показатели качества препаратов бактериофагов и методы их контроля
Table 2. Bacteriophage quality parameters and test methods

№ п/п	Наименование показателя качества Quality parameter	Лекарственная форма Dosage form	Метод контроля ^а Test method ^а
1	Описание Appearance	Таблетки Раствор Tablets Solution	Визуальный Visual inspection
2	Подлинность Identification	Таблетки Раствор Tablets Solution	Подтверждается специфической активностью согласно разделу «Специфическая активность» Confirmed by determination of specific activity according to the requirements of the «Specific activity» section
3	pH pH	Раствор Solution	ОФС Ионметрия General chapter Ionometry
4	Средняя масса таблетки и отклонения от средней массы Average tablet mass and mass variation	Таблетки Tablets	ОФС Однородность массы дозированных лекарственных форм General chapter Uniformity of mass of single-dose preparations
5	Время распадаемости Disintegration time	Таблетки Tablets	ОФС Распадаемость таблеток и капсул General chapter Disintegration of tablets and capsules
6	Потеря в массе при высушивании Loss on drying	Таблетки Tablets	ОФС Потеря в массе при высушивании General chapter Loss on drying
7	Извлекаемый объем Extractable volume	Раствор Solution	ОФС Извлекаемый объем General chapter Extractable volume
8	Стерильность Sterility	Раствор Solution	ОФС Стерильность, метод прямого посева или мембранной фильтрации General chapter Sterility test. Direct inoculation or membrane filtration method
9	Микробиологическая чистота Microbial quality	Таблетки Tablets	ОФС Микробиологическая чистота General chapter Microbial quality
10	Аномальная токсичность Abnormal toxicity	Таблетки Раствор Tablets Solution	ОФС Аномальная токсичность General chapter Abnormal toxicity
11	Специфическая активность Specific activity	Таблетки Раствор Tablets Solution	ОФС Бактериофаги (раздел «Специфическая активность») General monograph Bacteriophages («Specific activity» section)
12	Упаковка и маркировка Packaging and labelling	Таблетки Раствор Tablets Solution	ОФС Лекарственные формы, ОФС Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств General chapter Dosage forms, packaging, labelling, and transportation of medicinal products
13	Транспортирование и хранение Storage and transportation	Таблетки Раствор Tablets Solution	ОФС Лекарственные формы, ОФС Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств General chapter Dosage forms, packaging, labelling, and transportation of medicinal products

^а Согласно Государственной фармакопее Российской Федерации XIV изд.

^а According to the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 14th ed.

Заключение

В Государственную фармакопее Российской Федерации XIV изд. включена ОФС Бактериофаги, являющаяся базовой для препаратов этой группы. Разработаны 12 фармакопейных статей на лечебно-профилактические бактериофаги всех группировочных наименований, которые зарегистрированы в Российской Федерации и впервые включены в действующую Государственную фармакопее Российской Федерации.

Фармакопейные статьи на лечебно-профилактические бактериофаги, включенные в действующую Государственную

фармакопее Российской Федерации, будут способствовать унификации требований, предъявляемых к данной группе биологических лекарственных препаратов, и повышению их качества.

Дальнейшие исследования бактериофагов и их применение в клинической практике как в монотерапии, так и в комплексе с другими лекарственными препаратами позволят расширить границы их применения в медицинской практике и в последующем разработать комплексные лекарственные препараты стандартов качества, в состав которых могут быть включены бактериофаги.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00154-19-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590049-0).

Acknowledgments. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00154-19-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590049-0).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература/References

1. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*. 1999;284(5418):1318–22. <https://doi.org/10.1126/science.284.5418.1318>
2. Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nat Rev Drug Discov*. 2003;2:114–22. <https://doi.org/10.1038/nrd1008>
3. Chambless JD, Hunt SM, Stewart PS. A three-dimensional computer model of four hypothetical mechanisms protecting biofilms from antimicrobials. *Appl Environ Microbiol*. 2006;72(3):2005–13. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.3.2005-2013.2006>
4. Tetz VV. The effect of antimicrobial agents and mutagen on bacterial cells in colonies. *Med Microbiol Lett*. 1996;(5):426–36.
5. Tetz VV, Korobov VP, Artemenko NK, Lemkina LM, Panjkova NV, Tetz GV. Extracellular phospholipids of isolated bacterial communities. *Biofilms*. 2004;1(3):149–55. <http://dx.doi.org/10.1017/S147905050400136X>
6. Sponza DT. Investigation of extracellular polymer substances (EPS) and physicochemical properties of different activated sludge flocs under steady-state conditions. *Enzyme Microb Technol*. 2003;32(3–4):375–85. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(02\)00309-5](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(02)00309-5)
7. Акимкин ВГ, Дарбева ОС, Колков ВФ. Бактериофаги: исторические и современные аспекты их применения: опыт и перспективы. *Клиническая практика*. 2010;(4):48–54. [Akimkin VG, Darbeeva OS, Kolkov VF. Historical and modern aspects of bacteriophages application: experience and prospects. *Klinicheskaya praktika = Journal of Clinical Practice*. 2010;(4):48–54 (In Russ.)]
8. Slopek S, Weber-Dabrowska B, Dabrowski M, Kucharewicz-Krukowska A. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections in the years 1981–1986. *Arch Immunol Ther Exp*. 1987;35(5):569–83.
9. Цулукидзе АП. К методике применения бактериофага в хирургической практике. *Вестник хирургии*. 1941;(6):679–85. [Tsulukidze AP. The technique application of bacteriophage in surgical practice. *Vestnik khirurgii = Bulletin of Surgery*. 1941;(6):679–85 (In Russ.)]
10. Кокин ГА. Применение фагов в хирургии. *Советская медицина*. 1941;(9):15–8. [Kokin GA. The use of phages in surgery. *Sovetskaya meditsina = Soviet Medicine*. 1941;(9):15–8 (In Russ.)]
11. Журавлев ПМ, Кокин ГА, Покровская МП. Фаготерапия и фагопрофилактика газовой гангрены. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1944;(9):44. [Zhuravlev PM, Kokin GA, Pokrovskaya MP. Phagotherapy and phagoprophylaxis of gas gangrene. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of microbiology epidemiology and immunobiology*. 1944;(9):44 (In Russ.)]
12. Авксентьева ВА, Алтыртсева ИЕ, Бурукина АВ, Зобнина КС, Гельшан ЛС, Кузнецова ГС, Минкевич ЕИ. К вопросу повышения лечебной эффективности дизентерийного бактериофага. *Бактериофагия. Сборник трудов межинститутской конференции*. Тбилиси. 1957;115–21. [Avksentyeva VA, Altyrtseva IE, Burukina AV, Zobnina KS, Gelshan LS, Kuznetsova GS, Minkevich EI. To the question of increasing the therapeutic effectiveness of dysentery bacteriophage. *Bacteriophagy. Proceedings of the inter-institute conference*. Tbilisi. 1957;115–21 (In Russ.)]
13. Раппе ФИ, Зобнина КС, Кузнецова ВК, Давыдова КП, Дунаева НН. Разработка методов получения высокоактивного дизентерийного бактериофага с учетом микробного пейзажа в очаге. *Бактериофагия. Сборник трудов межинститутской конференции*. Тбилиси. 1957;159–61. [Rappe FI, Zobnina KS, Kuznetsova VK, Davydova KP, Dunaeva NN. Development of methods for obtaining highly active dysenteric bacteriophage taking into account the microbial landscape in the focus of infection. *Bacteriophagy. Proceedings of the inter-institute conference*. Tbilisi. 1957;159–61 (In Russ.)]
14. Кисляк НС, Самсыгина ГА, Бони ЕГ. Стафилококковый бактериофаг в лечении гнойно-воспалительных заболеваний новорожденных. В кн.: *Материалы Всесоюзного симпозиума, посвященного 60-летию Тбилисского НИИВС*. Тбилиси; 1984. С. 212–4. [Kislyak NS, Samsyigina GA, Boni EG. Staphylococcal bacteriophage in the treatment of purulent-inflammatory diseases of newborns. In: *Materials of the All-Union symposium on the 60th anniversary of the Tbilisi NIIVS*. Tbilisi; 1984. P. 212–4 (In Russ.)]
15. Бессмертная НГ, Чижова ГВ, Владимировна НЮ, Когут ЕП. Эффективность применения пиобактериофага у беременных с пиелонефритами. В кн.: *Пленум Российской ассоциации акушеров-гинекологов «Инфекции в акушерстве, гинекологии и перинатологии»*. Сборник научных трудов. Саратов; 1999. С. 35–6. [Bessmertnaya NG, Chizhova GV, Vladimirova NYu, Kogut EP. Effectiveness of the use of pyobacteriophage in pregnant women with pyelonephritis. In: *Plenum of the Russian Association of Obstetricians and Gynecologists «Infections in obstetrics, gynecology and perinatology»*. Collection of scientific papers. Saratov; 1999. P. 35–6 (In Russ.)]
16. Лахно ВМ, Хомякова ЕЮ, Кузнецов ЮВ. Применение фаготерапии для лечения инфекционных осложнений после аппендэктомии. *Вести медицины*. 1996;(5–6):5. [Lakhno VM, Khomyakova EYu, Kuznetsov YuV. The use of phage therapy for the treatment of infectious complications after appendectomy. *Vesti meditsiny = Medicine News*. 1996;(5–6):5 (In Russ.)]
17. Серезин ИН, Даутова ЗА, Никова ГА, Фаттахов ВТ. Первые результаты применения пиобактериофага поливалентного в профилактике раневой инфекции глаза. В кн.: *Материалы научно-практической конференции «Актуальные проблемы офтальмологии»*. Уфа; 1996. С. 24. [Seryezhin IN, Dautova ZA, Nikova GA, Fattakhov VT. The first results of the use of piobacteriophage polyvalent in the prevention of wound infection of the eye. In: *Materials of the scientific-practical conference «Vital problems of ophthalmology»*. Ufa; 1996. P. 24 (In Russ.)]
18. Меладзе ГД, Мебуке МГ, Чхетия ШН, Кикнадзе НЯ. Эффективность стафилококкового бактериофага при лечении гнойных заболеваний легких и плевры. *Грудная хирургия*. 1982;(1):53–6 [Meladze GD, Mebuke MG, Chkhetia NSh, Kiknadze NYa. Efficacy of staphylococcal bacteriophage in the treatment of purulent diseases of lungs and pleura. *Grudnaya khirurgiya*. 1982;(1):53–6 (In Russ.)]
19. Лазарева ЕБ, Спиридонова ТГ, Биткова ЕЕ, Лашенкова НН, Кудрявцева НИ, Меньшиков ДД. Эффективность перорального применения бактериофагов для лечения больных с ожогами. В кн.: *Возможности и перспективы*

- совершенствования диагностики и лечения в клинической практике: тезисы докладов научно-практической конференции, 13 ноября 1997 г. М.; 1997. С. 41–2. [Lazareva EB, Spiridonova TG, Bitkova EE, Lashenkova NN, Kudryavtseva NI, Men'shikov DD. The effectiveness of oral use of bacteriophages for the treatment of patients with burns. In: *Opportunities and prospects for improving diagnosis and treatment in clinical practice: Abstracts of the scientific-practical conference, November 13, 1997*. Moscow; 1997. P. 41–2 (In Russ.)]
20. Кочеткова ВА, Мамонтов АС, Московцева РЛ, Ерастова ЕИ, Трофимов ЕИ, Попов МИ, Джубалиева СК. Фаготерапия послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений у онкологических больных. *Советская медицина*. 1989;(6):23–6. [Kochetkova VA, Mamontov AS, Moskovtseva RL, Erastova EI, Trofimov EI, Popov MI, Dzhubalievskaya SK. Phage therapy of postoperative purulent-inflammatory complications in cancer patients. *Sovetskaya meditsina = Soviet Medicine*. 1989;(6):23–6 (In Russ.)]
21. Перепанова ТС, Малова ЮА, Толордава ЭР, Круглов АН. Профилактика и терапия препаратами бактериофагов инфекций мочевых путей. В кн.: *Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности: материалы 4-ой научно-практической конференции с международным участием: к 70-летию профессора В.А. Алёшкина, Нижний Новгород, 24–26 сентября*. М.: Медицинское Маркетинговое Агентство; 2018. С. 56. [Perepanova TS, Malova YuA, Tolordava ER, Kruglov AN. Prevention and treatment with drugs of bacteriophage urinary tract infections. In: *Bacteriophages: theoretical and practical aspects of their application in medicine, veterinary and food: book of abstracts of the fourth international scientific conference: to the 70th anniversary of professor V.A. Aleshkin, Nizhni Novgorod, September 24–26*. Moscow: Meditsinskoe Marketingovoe Agentstvo; 2018. P. 56 (In Russ.)]
22. Акимкин ВГ. Ликвидация хронической эпидемии нозокомиального сальмонеллеза в крупном многопрофильном лечебном учреждении с использованием адаптированного сальмонеллезного бактериофага. В кн.: *Актуальные вопросы эпидемиологии инфекционных болезней: сборник научных трудов*. М.; 1997. С. 206–9. [Akimkin VG. Elimination of the chronic epidemic of nosocomial salmonellosis in a large multidisciplinary treatment facility using adapted salmonella bacteriophage. In: *Actual issues of the epidemiology of infectious diseases: a collection of scientific papers*. Moscow; 1997. P. 206–9 (In Russ.)]
23. Гуттман Б, Райн Р, Каттер Э. Общая биология бактериофагов. В кн.: Каттер Э, Сулаквелидзе А, ред. *Бактериофаги: биология и практическое применение*. М.: Научный мир; 2012. С. 58–110. [Guttman B, Raya R, Katter E. General biology of bacteriophages. In: Katter E, Sulakvelidze A, eds. *Bacteriophages: biology and practical application*. Moscow: Nauchnyy mir; 2012. P. 58–110 (In Russ.)]
24. Красильников ИВ, Лыско КА, Отрашевская ЕВ, Лобастова АК. Препараты бактериофагов: краткий обзор современного состояния и перспектив развития. *Сибирский медицинский журнал*. 2011;26(2):33–7. [Krasilnikov IV, Lyско KA, Otrashhevskaya EV, Lobastova AK. Bacteriophage based preparations: a brief survey of current state and future development. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal = Siberian Medical Journal*. 2011;26(2):33–7 (In Russ.)]
25. Bacteriophage: Genetics and Molecular Biology. Mc Grath S, van Sinderen D, eds. Norfolk. UK: Caister Academic Press; 2007.
26. Каргина ТМ, Осипова ИГ, Саканян ЕИ, Мовсесянц АА. История разработки фармакопейных стандартов качества на биологические лекарственные препараты и методы их испытаний в России. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2016;16(3):131–8. [Kargina TM, Osipova IG, Sakanyan EI, Movsesyants AA. The history of development of Pharmacopoeia standards quality biological drugs and methods of tests in Russia. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2016;16(3):131–8 (In Russ.)]
27. Орлова ЕВ, Ефимова МГ, Функнер ЕВ, Николаева АМ, Ковязина НА, Шитова ОИ, Шилова ЕГ. Технологические аспекты разработки препаратов бактериофагов и эффективность их применения. В кн.: *Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности: материалы 4-ой научно-практической конференции с международным участием: к 70-летию профессора В.А. Алёшкина, Нижний Новгород, 24–26 сентября*. М.: Медицинское Маркетинговое Агентство; 2018. С. 55. [Orlova EV, Efimova MG, Funkner EV, Nikolaeva AM, Kovyazina NA, Shitova OI, Shilova EG. Technological aspects of the development of bacteriophage preparations and the effectiveness of their use. In: *Bacteriophages: theoretical and practical aspects of their application in medicine, veterinary and food: book of abstracts of the fourth international scientific conference: to the 70th anniversary of professor V.A. Aleshkin, Nizhni Novgorod, September 24–26*. Moscow: Meditsinskoe Marketingovoe Agentstvo; 2018. P. 55 (In Russ.)]
28. Саканян ЕИ, Шемерянкина ТБ, Осипова ИГ, Каргина ТМ, Шишова ЛИ, Бармин АВ и др. Создание фармакопейных стандартов качества для Государственной фармакопеи Российской Федерации. *Химико-фармацевтический журнал*. 2017;51(2):40–5. [Sakanyan EI, Shemeryankina TB, Osipova IG, Kargina TM, Shishova LI, Barmin AB, et al. Creation of pharmacopoeia quality standards for the State Pharmacopoeia of the Russian Federation. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2017;51(2):40–5 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2017-51-2-40-45>
29. Миронов АН, Мовсесянц АА, Бондарев ВП, Озеретковский НА, Шимчук ЛФ. Актуальные вопросы по разработке стандартов качества иммунобиологических лекарственных препаратов. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2013;(2):57–9. [Mironov AN, Movsesyants AA, Bondarev VP, Ozeretskovsky NA, Shimchuk LF. Highlights of elaborating pharmacopoeia monographs for immunobiological preparations. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2013;(2):57–9 (In Russ.)]
30. Мовсесянц АА, Бондарев ВП, Олефир ЮВ, Меркулов ВА, Шимчук ЛФ. Стандарты качества иммунобиологических лекарственных препаратов — новое в Государственной фармакопее Российской Федерации. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2016;(2):38–41. [Movsesyants AA, Bondarev VP, Olefir YuV, Merkulov VA, Shimchuk LF. Quality standards for immunobiological medicinal products — new texts in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2016;(2):38–41 (In Russ.)]

Об авторах / Authors

Каргина Татьяна Михайловна, канд. биол. наук. *Tatyana M. Kargina*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-6652-7559>

Саканян Елена Ивановна, д-р фарм. наук, проф. *Elena I. Sakanyan*, Dr. Sci. (Pharm.), Professor. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-8536-4804>

Давыдов Дмитрий Сергеевич, канд. биол. наук. *Dmitry S. Davydov*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-1768-1362>

Парфенюк Римма Леонтьевна, канд. биол. наук. *Rimma L. Parfenyuk*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-8190-9299>

Поступила 26.06.2019

После доработки 05.11.2019

Принята к публикации 22.11.2019

Received 26 June 2019

Revised 5 November 2019

Accepted 22 November 2019