



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **92578** (13) **C2**
(51) **МПК (2009)**
A61K 35/74 (2006.01)
A61K 6/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) АНТИБАКТЕРІАЛЬНИЙ ТА/АБО ПРОТИГРИБКОВИЙ КОМПОНЕНТ, ЯКИЙ МАЄ ВЛАСТИВІСТЬ СПЕЦИФІЧНО ЗВ'ЯЗУВАТИСЯ З БАКТЕРІЯМИ ТА/АБО ГРИБАМИ

1

(21) а201008848

(22) 16.07.2010

(24) 10.11.2010

(46) 10.11.2010, Бюл.№ 21, 2010 р.

(72) РОЗЕНФЕЛЬД ВЛАДИСЛАВ ЛАЗАРЬЄВИЧ,
ДЯЧЕНКО СЕРГІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ, МІХЕЙ-
ЦЕВ ОЛЄГ ФЬОДОРОВІЧ, RU, ІВАНОВ АЛЕК-
САНДР ВЛАДИМІРОВІЧ, RU

(73) РОЗЕНФЕЛЬД ВЛАДИСЛАВ ЛАЗАРЬЄВИЧ,
ДЯЧЕНКО СЕРГІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ, МІХЕЙ-
ЦЕВ ОЛЄГ ФЬОДОРОВІЧ, RU, ІВАНОВ АЛЕК-
САНДР ВЛАДИМІРОВІЧ, RU

(56) Еремина И.А., Лузина О.В., Кригер О.В. Мик-
робиология продуктов растительного происхожде-
ния.// Учебное пособие, 87 с. – Кемерово, 2003 г.
Мирошников К.А., Чертков О.В. и др. Пептидогли-
канлизирующие ферменты бактериофагов – пер-
спективные противобактериальные агенты.//Успехи
биологической химии.- т.46. – 2006 г. – с. 65-

2

«Отчет об экспериментальном изучении фарма-
кологической активности и токсичности препарата
«Вицинале» производства ЗАО «Петрохим». Фе-
деральное Медико-биологическое агенство, Фе-
деральное государственное учреждение науки
Институт токсикологии.// г. Санкт-Петербург.- 2006
г. – 15 с.

E. Kutter. Phage therapy: bacteriophages as
antibiotics.//Evergreen State College, Olympia. WA
98505 – 1997. – 41 p.

US 20100021450 A1; 28.01.2010

EP 1337626 B1; 09.07.2009

RU 2337697 C1; 10.11.2008

(57) Антибактеріальний та/або протигрибковий
компонент, який має властивість специфічно зв'я-
зуватися з бактеріями та/або грибами, який **відрі-**
зняється тим, що він містить антибактеріальні
та/або протигрибкові віруси, змінені так, що у них
порушена реплікаційна функція.

Винахід відноситься до фармакології, ветери-
нарії, косметології, медицини, харчової і консерв-
ної промисловості. Крім цього, продукт, що заяв-
ляється, може застосовуватися як дезінфікуючий
та гігієнічний засіб.

Відомий лікарський препарат «Бактеріофаг
дизентерійний полівалентний» (Bacteriophagum
dysentericum polyvalentum in tabulettis cum
acidostato tegimento et in suppositoriis), виробницт-
ва ФГУП «НПО «Микроген», м. Москва, Росія.
Препарат являє собою стерильний фільтрат фа-
голізатів збудників бактеріальної дизентерії шигел
Флекснера і Зоніє. Випускають в рідкому стані, а
також в пігулках, з кислотостійким покриттям і в
свічках. Призначений для лікування хворих бакте-
ріальною дизентерією (дітей з 6-ти місячного віку і
дорослих), профілактики цього захворювання; лі-
кування реконвалесцентів.

Відомий лікувальний препарат «Бактеріофаг
коліпротейний жидкий и в таблетках с кислотоус-
тойчивым покрытием». (Bacteriophagum
coliproteicum liquidum et in tabulettis cum acidostato
tegimento) виробництва ФГУП «НПО «Микроген»,

м. Москва, Росія. Бактеріофаг коліпротейний рід-
кий – прозора рідина світло-жовтого кольору. У
таблетованому виді входить до складу пігулок з
кислотостійким покриттям із ацетилфталілцелю-
лози. Препарат являє собою суміш фільтратів фа-
голізатів, активних відносно найбільш розповсю-
джених ентеропатогенних ешеріхій серологічних
груп 020, 026, 033, 044, 055, 0111, 0119, 0124,
0125, 0127, 0151 протея мірабельного і вульгарно-
го. Показання: застосовується для лікування і
профілактики ентероколітів, лікування кольпітів
коліпротейної етіології, дисбактеріозів та інших
захворювань, які викликані чутливою до препарату
флорою.

Відомий лікарський препарат «Бактеріофаг
клебсіелловый поливалентный» (Bacteriophagum
klebsiellae polyvalentum), виробництва ФГУП «НПО
«Микроген», м. Москва, Росія. Бактеріофаг клебсі-
ел полівалентний очищений рідкий. Це очищений
фільтрат фаголізатів клебсіел озени, риносклеро-
ми пневмонії. Препарат має вигляд прозорої рід-
ни із слабо-жовтим чи зеленуватим відтінком. По-
казання: призначений для лікування озени,

(13) **C2**

(11) **92578**

(19) **UA**

риносклероми, гнійно-запальних, ентеральних та інших захворювань, що викликані бактеріями клібсіел, а також при обсіменінні внутрішньолікарняними штамами клібсіел.

Їх загальні недоліки полягають в складності створення нових лікарських препаратів під штами бактерій, які змінюються. Для створення нового препарату замість нинішнього, що перестав вбивати бактерії, які мутували, знадобляться роки досліджень і доказів безпеки нового препарату.

Відомі вірусні агенти, що лізують дріжджевидні і плісеневі гриби, зокрема *Candida*, *Penicillium* (И.П. Ревенко, Бактериофаги и их использование в ветеринарной практике; Киев, 1973 изд. «Урожай», с. 12).

Можливо використання вірусів грибів в комбінації з бактеріальними вірусами, наприклад, лікарським препаратом «Секстафаг», виробник: «Микроген» НПО ФГУП (НПО «Биомед») (Росія).

Недоліки такої комбінації також, як і у випадку із попередніми препаратами, полягають в складності перебудови препарату під штами бактерій, які змінюються. Для створення нового препарату замість нинішнього, що перестав вбивати бактерії, які мутували, знадобляться роки досліджень і доказів безпеки нового препарату [1].

Відомий харчовий консервант-препарат НИЗИН - натуральний харчовий консервант, який застосовується при виробництві різних харчових продуктів (молочні продукти, плавлені сири, пиво і кваси живого бродіння, рибні і овочеві консерви) для попередження бактеріального псування, бомбажа, уповільнення (зупинки) підвищення кислотності і, в кінцевому результаті, - з ціллю збільшення терміну зберігання, (див. Інструкцію по применению (Рекламный проспект производителя - ООО «Фуд Специалист» Россия, г. Москва. 2009 год). При цьому НИЗИН є поліпептидним антибіотиком вузького спектру дії і має усі недоліки антибіотиків, включаючи побічні ефекти: розвиток антибіотикорезистентних штамів і незмінний спектр специфічної активності.

Відома добавка у вигляді концентрату бактеріофагів, що входить до складу зубної пасти «Гелевая паста-аппликатор для полости рта с бактериофагами "ДЕНТОФАМ"», виробництва ЗАО «МИРРА-М», Росія, яка має, в тому числі, антисептичний, антибактеріальний ефект (див. патент РФ № 2165766).

Відомий «Гель-смазка лубрикант мирра-люкс (mirra-lux) профилактический с бактериофагами», «Гель косметический с бактериофагами» на основі аналогічної добавки того ж виробництва.

У всіх випадках додавання концентрату бактеріофагів переслідує ціль створення протимікробного ефекту. Дана добавка не впливає на нормальну флору організму людини. Проте, зміна мікрофлори у зв'язку з природними причинами вимагає від виробника такої добавки постійної адаптації бактеріофагів до таких змін з наступним проходженням тривалої процедури реєстрації і доказу безпеки знову виявлених бактеріофагів. Крім того, ефективність бактеріофагів *in vivo* залежить від ефективності їх реплікації, яка визначається індивідуаль-

ними властивостями організму конкретної людини, і погано повторювана [1].

Відоме застосування ферментів бактеріофагів як антимікробного агента [2, 3]. Подібне технічне рішення дозволяє забезпечувати високу селективність антимікробного ефекту (меншу, ніж у бактеріофагів і більшу, ніж у відомих антибіотиків). При цьому, у ферментів бактеріофагів, на відміну від самих бактерійних вірусів, відсутній вплив на мікробну екологію довкілля і передача генетичної інформації мікроорганізмам. Використання ферментів бактеріофагів з метою лікування викликає значно меншу кількість побічних ефектів в порівнянні з антибіотиками. Проте, ферменти бактеріофагів, на відміну від живих вірусів, не мають здатності специфічно зв'язуватися з клітинами-мішенями і накопичуватися за рахунок цього саме в осередках скупчення клітин-мішеней. Використання таких ферментів вимагає створення значних їх концентрацій. Крім того, такі ферменти не стабільні і легко руйнуються шляхом кислотного гідролізу, ферментними механізмами, фізичними чинниками, що робить їх малоприсадними для застосування як агентів, які тривало зберігають корисні властивості. З цієї ж причини вірусні ферменти мало застосовні для системного застосування (на відміну від місцевого застосування) з метою лікування. Окрім цього, введені в організм у формі, не захищеній від імунологічного розпізнавання, вони здатні викликати сенсibilізацію і вироблення антитіл їх нейтралізуючих. Знаходяться у складі вірусної частки, ферменти захищені від імунологічного контролю. Порівняльні особливості бактеріофагів і ферментів бактеріофагів наведені в таблиці 1.

В основі винаходу поставлено задачу по створенню нового продукту, що є біологічно активним компонентом, який має антибактеріальні та/або протигрибкові властивості, функцію специфічно зв'язуватися з бактеріями та/або грибами, а також властивості, що дозволяють забезпечити швидку перебудову виробництва під штами мікроорганізмів, які знову з'являються. При цьому новий продукт не буде здатний до передачі генетичної інформації.

Поставлена задача вирішена антибактеріальним та/або протигрибковим компонентом, який має властивість специфічно зв'язуватися з бактеріями та/або грибами, який характеризується тим, що він містить антибактеріальні та/або протигрибкові віруси, змінені так, що у них порушена реплікаційна функція.

Новим у винаході, що заявляється, є те, що біологічно активний компонент містить антибактеріальні та/або протигрибкові віруси, змінені так, що у них порушена реплікаційна функція.

Порівняльні особливості бактеріофагів з порушеною і збереженою реплікаційною функцією наведені в таблиці 2.

Актуальність створення нових протигрибкових і антибактеріальних препаратів, дезінфікуючих і консервуючих засобів для обробки різних харчових продуктів пояснюється наявністю великої кількості мікроорганізмів, що псують борошно, хліб, макарони, вина, пиво та ін.

Широту потенційного застосування цього винаходу можна ілюструвати інформацією по конкретних продуктах харчування і окремих прикладах товарів народного споживання.

1. БОРОШНО.

У мікрофлорі борошна нормується вміст спо-роутворюючих бактерій, особливо *Bac. subtilis*. У борошні зустрічаються також молочнокислі бактерії, оцтовокислі палички, несправжні дріжджі, спори плісневих грибів. Не повинно бути кокових форм бактерій, які розвиваються при підвищеній вологості борошна [4].

2. ХЛІБ.

Тягуча хвороба хліба. Збудником є сінна паличка (*Bac. subtilis*), що продукує потужні амілолітичні і протеолітичні ферменти.

Крейдяну хворобу викликають термостійкі дріжджі.

Пігментні плями викликаються грамм-негативними пігментоутворюючими бактеріями (дивна, синьогнійна, флуоресціююча палички).

П'яний хліб - виникає при зараженні борошна токсинами гриба роду *Fusarium*.

Пліснявіння викликається спорами плісневих грибів, які потрапляють з повітря, з тари, з рук і одягу персоналу. Спорозні бактерії роду *Clostridium* створюють умови, несприятливі для розмноження пекарних дріжджів, і надають їм неприємного зігрілого смаку. Використання при випічці хліба пшеничного борошна, інфікованого спорами *Bacillus mesentericus*, може призвести до його зараження тягучістю (картопляною хворобою) і поширення хвороби на усьому хлібопекарському заводі [4].

3. МАКАРОНИ.

Видами мікробного псування макаронних виробів є:

- спучення, яке викликається гетероферментативними молочнокислими бактеріями;
- поява забарвлення, яке викликають дріжджі роду *Candida*;
- прокисання, яке пов'язане з розвитком молочнокислих бактерій;
- пліснявіння, що викликають гриби родів *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*.

4. КОНДИТЕРСЬКІ ВИРОБИ.

Псування викликають осмофільні дріжджі, що ініціюють бродіння. При підвищеній вологості повітря може виникнути пліснявіння.

Може відбуватися псування карамелевих начинок (бродіння, зігрінення), що викликається молочнокислими і гнильними бактеріями.

Кремові вироби відносяться до швидкопсувних продуктів. Може відбуватися прокисання крему. В крем можуть потрапити золотисті стафілококи, патогенні кишкові бактерії, що викликають отруєння і виникнення інфекцій. [4]

5. ШКІДНИКИ ПИВОВАРІННЯ.

Мікрофлора суслу і пива.

До грамм-позитивних бактерій, що зустрічаються в суслі і пиві, відносяться молочнокислі палички, півні сарцини, мікрококи.

Молочнокислі палички (лактобацили) викликають погіршення смаку і аромату пива, викликають помутніння і прокисання, а іноді - ослизнення.

Півні сарцини добре розвиваються в присутності вуглекислого газу і спирту і зазвичай розмножуються в пиві низового бродіння, утворюючи опалесцюючу каламуть, дрібнозернистий осад, ослизнення, викликаючи появу в пиві неприємного смаку і медового запаху (сарцинне захворювання пива). Мікрококи, стрептококи легко пристосовуються до анаеробних умов, скупчуються в дріжджових осадах бродильних і лагерних танків, викликають помутніння пива і зміну його смаку.

До грамм-негативних мікроорганізмів відносяться оцтовокислі бактерії, бактерії групи кишкової палички та ін.

Оцтовокислі бактерії викликають швидке прокисання пива, помутніння, деякі види утворюють слиз і надають тягучість пиву.

Флавобактерії потрапляють у виробництво із засівними дріжджами. У інфікованому пиві з'являється шовковиста каламуть і запах пастернаку.

Ахромобактерії викликають псування пива (помутніння і неприємний запах) протягом декількох годин.

Бактерії групи кишкових паличок розвиваються в суслі, надаючи пиву солодкуватий фруктовий присмак і запах вареної капусти.

Дикі дріжджі є шкідниками виробництва, гальмують розвиток культурних дріжджів, погіршують органолептичні властивості пива. Найбільш поширеними серед диких дріжджів, що зустрічаються в пивоварінні, є дріжджі родів *Saccharomyces*, *Hansenula*, *Candida*, *Pihia*, *Torulopsis*.

Дріжджі-сахароміцети зазвичай збільшують вміст в пиві вищих спиртів і ефірів, надають пиву солодкуватого або терпко-гіркого смаку, викликають помутніння пива і утворення неприємного запаху.

Дріжджі ганзенола при зброджуванні цукрів утворюють окрім етилового спирту, також бутиловий і аміловий спирти, оцтову, масляну, янтарну кислоти і ефіри, що обумовлює різкий запах пива.

Дріжджі піхія і кандіда, розвиваючись в пиві, утворюють білу або сірувату плівку, викликають помутніння, надають пиву фруктовো-ефірний і лікарський присмак.

У 60-ті роки в пивоварному виробництві були виявлені ненормально дрібні дріжджові клітини, що уповільнюють бродіння і прискорюють відмирання виробничих дріжджів, оскільки вони виділяють в довкілля токсичний білок - "вбиваючий чинник". Ці дріжджі назвали дріжджами-вбивцями. [4]

6. KBAC.

Слизотвірні мікроорганізми до яких відносяться:

лейконостоки (*Leuconostoc mesenteroides*), сінна паличка (*Bacillus subtilis*) та інші мікроорганізми, які при зростанні на цукровмісних середовищах утворюють капсули;

оцтовокислі бактерії (ацетобактерії), рід *Acetobacter*. Вони, розвиваючись в квасі, окислюють етиловий спирт до оцтової кислоти, внаслідок чого різко підвищується його кислотність.

Гриби.

Міцеліальні гриби (пеніцилові, аспергілові, ризопуси, муковорі та ін.) надають ураженому квасу

характерний пліснявильний запах і неприємний присмак.

Дикі дріжджі.

Основним збудником псування квасу є *Candida mycoderma*.

Колиформи (представники *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* і *Klebsiella*).

Потрапляють в квас через загороджувальне устаткування з водою при порушеннях санітарного режиму виробництва працівниками. Можуть бути збудниками інфекцій травного тракту [4].

7. БЕЗАЛКОГОЛЬНІ ПРОДУКТИ.

Дріжджі викликають біологічне псування безалкогольних напоїв. Осмофільні дріжджі викликають бродіння фруктових соків, морсів, купажних сиропів та інших напівфабрикатів, погіршуючи органолептичні властивості напоїв (запах, смак, колір), відбувається спінювання напоїв. Основними видами дріжджів, що розвиваються в безалкогольних напоях, є дріжджі роду *Candida mycoderma*, *Hanseniaspora* *apiculatus*, *schizosaccharomyces*.

Оцтовокислі бактерії (ацетобактерії) представники роду *Acetobacter*, утворюють на поверхні напоїв плівку білуватого або сірого кольору, викликають прокисання.

Молочнокислі бактерії (*Lactobacillus*) викликають скисання соків, утворюють стійку муть і викликають псування сировини. Також можуть викликати ослизнення напоїв.

Слизотвірні бактерії.

Найчастіше ослизнення безалкогольних напоїв викликають бактерії роду лейконосток (вид лейконосток мезентероїдес).

Мицеліальні гриби - це *Aspiggillus*, *Penicillium* *Fusarium* і інші гриби [4].

8. ШКІДНИКИ У ВИРОБНИЦТВІ ВИНА.

Плісневі гриби.

Найчастіше у виноробстві зустрічаються гриби родів *Rhizopus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Pullularia* (вологі чорні слизові плями в вині, сусло перетворюється на слизову тягучу масу), *Botrytis*.

Дріжджі утворюють плівки на поверхні вина, більше ефірів, що надають вину сторонні запахи, фруктовий - ефірний і лікарський присмаки, викликають помутніння вина, знижують бродильну активність культурних дріжджів. Це дріжджі родів *Zygosaccharomyces*, *Hansenula*, *Pichia*, *Schizosaccharomyces*, *Asatanomyces*, *Saccharomycodes*, *Candida*, *Torulopsis*, *Cluconibacter*.

Acetobacter утворюють тонку плівку на поверхні вина, надають йому різкий запах.

Багато представників роду молочнокислих паличок *Lactobacillus* викликають утворення слизу у вині, обумовлюють появу смаку і запаху квашеної капусти.

Micrococcus - викликають зниження кислотності після бурхливого бродіння, що сприяє розвитку у вині сторонньої мікрофлори, викликають також помутніння вина [4]. Головним збудником турну є бактерії роду *Bacterium tastrophorum*. Захворюванню вин турном сприяє висока температура при зброджуванні сусла і витримці.

Відповідно до цього винаходу, введення на певному етапі розвитку вина вірусів з порушеною реплікаційною функцією, відповідних шкідникам, консервуватиме вино, не даючи йому змінювати органолептичні властивості, передбачені виробником і попереджати отруєння споживачів.

9. МАРГАРИН.

Гіркий смак - виникає при дуже великому обсязі маргарину гнильними бактеріями (наприклад, *Pseudomonas bacillus*).

Зірклий смак і неприємний запах виникають внаслідок розкладання жирів деякими дріжджами, грибами, флуоресціюючими гнильними бактеріями, які мають ліполітичну активність.

Утворення пігментних плям на поверхні маргарину обумовлене розвитком грибів і деяких пігментотворюючих гнильних бактерій.

Кислий смак виникає при зберіганні маргарину при температурі вище 10 °C в результаті розвитку термостійких молочнокислих бактерій. [4]

10. МАЙОНЕЗ.

Із сировиною у виробництво майонезу можуть потрапити мікроорганізми, що розщеплюють білки, вуглеводи, жири. Це бактерії родів *Bacillus*, *Clostridium*, *Proteus*, *Pseudomonas*, дріжджі *Candida*, *Lipolitica* і гриби родів *Aspergillus*, *Penicillium* та ін. Розвиваючись в майонезі, ці мікроорганізми можуть викликати його псування [4].

11. ОВОЧІ І ФРУКТИ.

Фузаріоз викликається грибами роду *Fusarium*.

Фітофтороз викликається грибом фітофторою.

Фомоз (чорна суха гнилизна або гнилизна се- рдечка) викликається грибом *Phoma*.

Моніліоз (плодова гнилизна плодів і овочів) викликається грибом роду *Monilia*.

Парша картоплі викликається різними формами ґрунтових актиноміцетів, частіше роду *Streptomyces*.

Судинний бактеріоз викликається паличкоподібною холодостійкою бактерією роду *Xanthomonas* (ксантомонес) і безспоровими бактеріями роду *Erwinia*.

Мокра бактерійна гнилизна овочів викликається бактеріями родів *Pseudomonas* і *Erwinia*. Чорна суха гнилизна (альтернаріоз) викликається грибом роду *Alternaria*.

Сіра гниль викликається грибом роду *Botrytis*. Біла гнилизна моркви і інших коренеплодів викликається грибом роду *Sclerotinia*. Гнилизна цитрусових в період зберігання викликають переважно гриби роду *Penicillium* [4].

12. ПРОДУКТИ, ПРИЗНАЧЕНІ ДЛЯ ТРИВАЛОГО ЗБЕРІГАННЯ (КОНСЕРВИ).

У залишковій мікрофлорі консервів, що стерилізуються, виявляються, як правило, спороутворюючі бактерії. Це кислото- і газотвірні мезофільні аеробні і факультативно-анаеробні бактерії роду *Bacillus* (*Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus*), кислотоутворюючі термофільні аероби *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus aerothermophilus* мезофільні гнильні анаероби *Clostridium putrificum* і *Clostridium sporogenes*, а також інші маслянокислі бактерії [4].

13. ХАРЧОВА СИРОВИНА.

Ще більшу небезпеку, ніж псування харчових продуктів, являє собою вірогідність інфікування харчової сировини під час переробки і наступного попадання в готові харчові продукти промислового виробництва токсичних мікроорганізмів. Патогенні мікроорганізми, здатні передаватися до людини через продукти харчування і харчову сировину, містять різноманітну за властивостями мікрофлору від порівняно нешкідливої до дуже патогенної, що викликає небезпечні для життя інфекційні захворювання (черевний тиф, дизентерію, паратифи та ін.). Одним з характерних мікробіологічних збудників хвороб, що передаються в організм людини через продукти харчування і харчову сировину, є бактерії групи *Salmonella*. Сальмонельоз зазвичай розвивається в результаті споживання заражених продуктів, які приготовлені або зберігалися в умовах, сприятливих для розвитку цього мікроорганізму. Основним джерелом зараження людини сальмонелами вважаються продукти тваринного походження (м'ясо, домашні птахи, яєчні продукти, не піддані спеціальній обробці). Так, вживання яєчних продуктів, що містять значне число мікроорганізмів групи *Salmonella*, як компонентів при виробництві хлібобулочних виробів або в готових салатах може викликати спалах отруєння, оскільки ці продукти не піддаються тепловій обробці, достатній для знищення вказаних мікроорганізмів. Продукти можуть бути інфіковані сальмонелами при неправильному транспортуванні, зберіганні і приготуванні та можуть стати джерелом захворювання. Дизентерію, або шигелез, викликають бактерії *Shigella*. Установлено, що *Shigella dysenteriae* виробляє ентеротоксин з високою цитотоксичністю. Часто діарейні захворювання викликаються бактеріями *Escherichia coli* різних штамів. При цьому необхідно відмітити, що *E. coli* не завжди бувають патогенними. Окрім розглянутих, причиною харчових токсикоінфекцій можуть стати і інші грам-негативні бактерії: *Pseudomonas*, *Yersinia enterocolitica* та ін. [4].

14. Одна з найбільш поширених харчових інфекцій, або токсикоінфекцій, - ботулізм, що викликається токсином бактерій *Clostridium botulinum*. Збудники ботулізму добре розмножуються в кулінарно оброблених продуктах і продуктах, що зберігаються тривалий час. Більшість м'ясних, рибних, овочевих консервів є для них сприятливим середовищем. Відомі також випадки розвитку цих бактерій в деяких фруктових консервах [4].

15. Є відомості про харчові токсикоінфекції, які пов'язані з аеробними спороутворюючими бацилами. *Bacillus cereus* відноситься до великих грам-позитивних аеробних спороутворюючих бацил, які здатні рости і в анаеробних умовах. Мікроорганізм відповідальний за псування пастеризованого молока і вершків (згортання). Дані дозволяють віднести ці бацили до числа патогенних мікроорганізмів. У малих кількостях *Bacillus cereus* не небезпечний, тому основною задачею профілактичних заходів має бути запобігання проростанню спор і наступного розмноження вегетативних клітин в готових продуктах [4].

16. Проблемою міжнародного значення є ентеротоксикози, викликані стафілококовою мікроф-

лорою. Близько 50 %, що виділяють *Staphylococcus aureus* здатні при випробуваннях в лабораторних умовах виробляти ентеротоксин, більше того, один і той же штам може виробляти два і більше ентеротоксини [4].

17. Спалахи септичної ангін і скарлатини є результатом харчових токсикоінфекцій, викликаних бактеріями *Streptococcus*. Споживання сирого молока і його продуктів, які інфіковані бактеріями *Brucella*, призводить до зараження бруцельозом. Хоча в молоці бактерії *Brucella* не розмножуються, вони гальмують природне скисання і процеси переробки молока при виготовленні таких продуктів, як масло, м'які сири і морозиво. В довідці за відсутності прямого сонячного освітлення бактерії *Brucella* зберігаються протягом багатьох тижнів і можуть переносити заморожування, проте дезінфікуючі засоби і нагрівання понад 333° К призводять до їх інактивації [4].

18. В результаті метаболізму як мінімум 150 видів плісневих грибів в певних харчових продуктах і у відповідних умовах утворюються мікотоксини - речовини, токсичні при пероральному прийомі для людини. Мікотоксини, як правило, резистентні до звичайних методів обробки. До мікотоксичних інфекцій відносять, наприклад, фікомікоз, який викликають *Mucor* та *Aspergillus*, що потрапили з їжею в організм людини, особливо родів *Absidia*, *Rhizopus*, *Mortierella*, *Basidiobolus*, *Mucor* і *Cunninghamella*. Боротьба з мікотоксикозами полягає в забезпеченні умов виробництва, переробки, зберігання, перевезення і розподілення харчових продуктів, що забезпечують запобігання утворенню мікотоксинів. Особливо важливо запобігти зростанню грибів в продуктах при зберіганні [4].

19. Особливо великої шкоди гнильні бактерії завдають хлібопекарським дріжджам, скорочуючи термін їх зберігання. Запропоноване рішення, згідно з цим винаходом, полягає в тому, що для усунення негативних наслідків дій гнильних бактерій при виробництві і зберіганні дріжджів з метою дезінфекції устаткування та/або готового продукту, потрібне використання (як антибіотика) бактеріофага з порушеною репродуктивною функцією, спрямованого проти гнильних бактерій.

20. Молочні продукти. Розвиток бактерій *Streptococcus lactis* призводить до скисання молока, бактерії *Alcaligenes viscosus* викликають згортання молока і надають йому згрілого смаку. Гіркий смак з'являється також за наявності в молоці протеолітичних бактерій *Streptococcus liquefaciens*. При переробці молока і молочних продуктів істотний вплив на мікробіологічні показники чинить якість дезінфекції виробничих ємностей і технологічного устаткування, які можуть слугувати джерелом вторинного обсіменіння сировини небажаною мікрофлорою [4].

21. Пропонується новий, оригінальний спосіб збільшення терміну придатності м'яса забиваної худоби. Перед забоєм тварину дезінфікують за допомогою вірусів, здатних порушувати життєдіяльність мікроорганізмів, наприклад, бактеріофагів, з порушеною реплікаційною функцією, спрямованих проти гнильних бактерій. Ці ж частки уберігають м'ясо і рибу після забою.

22. Корисна заміна пастеризації і стерилізації харчових продуктів. Пастеризація - процес одноразового нагрівання найчастіше рідких продуктів або речовин до 60 °C протягом 60 хвилин або при температурі 70-80 °C протягом 30 хв. Технологія була відкрита в середині XIX століття французьким мікробіологом Луї Пастером. При подібному режимі окрім негативної флори гине і корисна, втрачається частина вітамінів і ферментів. Технічне рішення, що заявляється, дає можливість створення засобів, метою яких, на відміну від пастеризації, є не лише знищення шкідливої флори, але і збереження при цьому усіх вітамінів, ферментів і корисних мікроорганізмів.

Цей винахід застосовний не лише відносно продуктів харчування і харчової сировини.

1. Відомий шампунь від лупи Head&Shoulders, що містить анти грибковий компонент піритіон цинку, який діє проти гриба *Malassezia globosa*, оскільки поява лупи пов'язана, у тому числі, з цим і іншими грибами. Можливе створення вірусу гриба *Malassezia globosa* з порушеною реплікаційною функцією, що вирішить задачу знищення гриба без шкідливих наслідків.

2. Вчення Мечнікова про передчасну старість людини, яке зв'язане з постійною інтоксикацією організму продуктами життєдіяльності гнильних бактерій кишечника отримало не лише широке визнання, але і практичне застосування. Винахід, що заявляється, дає можливість створення профілактичних продуктів харчування, метою яких є системне нівелювання вищевикладеного негативного ефекту.

3. Засіб для продовження життя зрізаних рослин.

Тривалість збереження таких рослин залежить у тому числі і від підтримки нормальної мікрофлори і запобігання ушкодженню тканин мікроорганізмами, що дозволяє здійснити запропонований винахід.

4. Розкладання мертвих тіл людини, тварин і рослин пов'язане, у тому числі, з розвитком в них гнильних процесів і процесів бродіння. Воно може бути відвернене або уповільнено шляхом використання вірусів, здатних порушувати життєдіяльність мікроорганізмів, з порушеною реплікаційною функцією, спрямованих проти будь-якого з відомих мікроорганізмів, що беруть участь в цих процесах, наприклад роду *Proteus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, клостридій, грибів *Aspergillus* і *Penicillium*, а також відносно будь-якого невідомого мікроорганізму, виділеного з мертвого тіла людини або тварини без його мікробіологічної класифікації, але при виявленні чутливого до нього вірусу і приготуванні препарату вірусу з порушеною реплікаційною функцією.

5. Ученими під керівництвом доктора Нао Сузукі із Стоматологічного коледжу міста Футуока було виявлено, що бактерія, яка викликає виразку і рак шлунку, мешкає в порожнині рота людей, котрі страждають галітозом (неприємним запахом з рота). Бактерія *Helicobacter pylori* присутня в порожнині рота у більшості людей. За наявності захворювань пародонту, при поганій гігієні порожнини рота, при поганій установці пломб, тобто при при-

чинах, що викликають неприємний запах з рота, порожнина рота може слугувати житлом для бактерії *Helicobacter pylori*. Відомий вірус, який порушує життєдіяльність цього мікроба. Запропонований винахід дозволяє вирішувати проблему хелікобактеріоза.

6. Слід зазначити, що більшість фармацевтичних носіїв, продуктів харчування і особистої гігієни можуть містити в собі, додатковим біологічно активним компонентом, будь-які віруси, що мають антибактеріальні та/або протигрибкові властивості, у яких порушена реплікаційна функція, і які можуть бути адресно спрямовані проти відповідних представників патогенної та/або умовно-патогенної флори. На відміну від антибіотиків, вони не створюють загрозу здоров'ю користувачів і, на відміну від бактеріофагів, не створюють загрозу мікробному пейзажу довкілля і тіла людини.

7. Ученими було доведено, що антибактеріальне мило, яке містить в своєму складі триклозан, має безліч побічних ефектів. Воно знищує, у тому числі, і корисні мікроорганізми, що позбавляє шкіру природного захисту. Тому щоденне застосування такого мила сприяє тому, що патогенні бактерії виробляють стійкість до триклозану і до інших антибактеріальних засобів. Винахід, що заявляється, допоможе розв'язати проблему за допомогою застосування вірусів з порушеною реплікаційною функцією, спрямованих проти будь-якого з представників патогенних або умовно-патогенних бактерій чи їх комбінації.

Мило для жінок, мило для чоловіків, мило для дітей з антибактеріальним ефектом. Відомо, що нормальна мікрофлора шкіри і слизових оболонок у дітей до статевих дозрівання відмінна від такої в період статевої зрілості. Мікрофлора шкіри слизових оболонок у чоловіків і жінок також відмінна. Існуючі антисептики не мають такої тонкої специфічності, щоб забезпечити вказані вище вікові і статеві особливості засобів гігієни. В той же час запропонований винахід дозволяє розв'язати цю проблему.

8. Антибактеріальні серветки, антибактеріальний лосьйон, аерозоль для комп'ютерної клавіатури і інших поверхонь та об'ємів, дезодоранти, гелі і пілки для душі, очисні лосьйони, губки і інші чистячі і миючі засоби. Винахід, що заявляється, допоможе розв'язати проблему за допомогою застосування вірусів з порушеною реплікаційною функцією, спрямованих проти будь-якого з представників патогенних або умовно-патогенних бактерій.

9. Вигідна заміна антибіотиків в тваринництві. Антибіотики широко застосовуються в тваринництві і птахівництві з профілактичною і лікувальною метою. Негативними сторонами цієї практики є широке поширення антибіотикорезистентних штамів мікроорганізмів як у тварин, так і в людей, а також контамінація продуктів тваринництва і птахівництва антибіотиками, що здатні викликати алергічні і інші небажані реакції. Запропонований винахід дозволяє уникнути цих негативних сторін і отримувати екологічно чисті продукти тваринництва і птахівництва.

Провідна роль в підвищенні щодобових приростів тварин завжди віддавалася якості кормів. Проте не можна забувати про важливу складову в харчуванні тварин - воду, якої, в порівнянні з кормом, споживається в 2-3 рази більше. Саме з нею найлегше поширюються інфекції. Звичайна питна вода ферм ідеально підходить по кислотності, температурним і кормовим умовам для розвитку ентеробактерій, плісняви і дріжджів. І відкриті системи подачі води (конусні напувалки, чани і баки для її зберігання) дуже легко забруднюються кормами і гноєм. Навіть ніпельні напувалки не забезпечують необхідну якість води і можуть забиватися бактерійними біоплівками. Між тим, голландськими ученими доведено, що існує пряма кореляція між рівнем зараженості води і виробничими показниками тваринництва, такими як конверсія корму, збереження поголів'я, щодобові прирости та ін. Як показує практика, традиційні дезінфікуючі засоби, такі як хлорин та інші не завжди справляються з мікробіологічним забрудненням питної води. Зокрема, вміст ентеробактерій в 1 мл залишається на рівні 20-300 тис. І тваринники вимушені застосовувати антибіотики. При цьому, багато лікарських препаратів, що подаються з питною водою, зроблені на основі лактози і є відмінним поживним середовищем для патогенів. Крім того, тварини не охоче п'ють навіть слабохлоровану воду і, як наслідок, гірше споживають корми. В таких умовах потрібні якісно нові технологічні підходи до гігієни води на фермах. Одним з них є застосування бактеріофагів з порушеною реплікаційною функцією.

10. Дезінфекція будь-якого устаткування. Відомо, що залежно від функціонального призначення різні предмети, що контактують з людьми мають різний склад мікрофлори залежно від регіону, особливостей фізико-хімічного і біологічного оточення (купюри, поручні громадського транспорту, медичне устаткування гнійно-септичних, терапевтичних, онкологічних, педіатричних, інфекційних стаціонарів, столові прилади кондиціонери повітря, одяг, взуття салони автомобілів). Запропонований винахід дозволяє індивідуально забезпечити мікробіологічну безпеку у кожному конкретному випадку.

11. Знезараження мінеральних вод. Винахід, що заявляється, дозволяє знищувати потенційно небезпечну мікрофлору без зміни мінерального складу і органолептичних властивостей води з урахуванням регіональних особливостей і без впливу на мікрофлору довкілля.

12. Презервативи з антибактеріальним мастилом. Використання неселективних антибактеріальних агентів може призвести до загибелі нормальної мікрофлори піхви. При цьому розвиток хронічних захворювань тазових органів може бути не менш небезпечним, ніж розвиток захворювань, що передаються статевим шляхом. Запропонований винахід дозволяє вибірково запобігати інфікуванню потенційно небезпечними бактеріями, не впливаючи на нормальну мікрофлору статевих шляхів. Широко відомі антибіотики та інші речовини (наприклад, сульфаніламід), що проявляють антимікробну активність при введенні в організм людини і тварин і відносно безпечні для їх здоро-

в'я (на відміну від речовин, що пригнічують мікроби тільки при безпосередньому контакті з ними та які не можна вводити в організм людини і тварин із-за їх побічних ефектів). Ці антимікробні речовини (далі АР) врятували на даний момент багато життів. В той же час, будь-яка АР рано чи пізно може перестати бути ефективною. Відбувається це тому, що хвороботворні мікроорганізми з часом "приспосовуються" до того або іншого лікарського засобу, спрямованого на боротьбу з ними. З'являються резистентні до визначеної АР штами бактерій. Для вирішення цієї проблеми постійно створюються нові антибіотики. Сучасна наука пропонує ще один спосіб боротьби - бактеріофагію, тобто знищення патогенних мікробів за допомогою інших мікроорганізмів. У якості "лікарів" використовують особливі віруси, які вбивають хвороботворні бактерії. Зустрічаючи чутливу мікробну клітину, бактеріофаг проникає всередину неї, перемикає механізм її дії на відтворення собі (бактеріофагу) подібних, які, розриваючи оболонку клітини, в десятиразовій кількості атакують інші мікроби. Лізис набуває спонтанного характеру, і звільнення від небажаних мікробів відбувається за лічені години. На думку медиків, що проводили експеримент, бактеріофагія - реальна альтернатива антибіотикам. При цьому вартість нового виду лікування набагато нижча. Це безпечний вид медикаментів, тому що, по-перше, бактеріофаги знищують тільки один вид мікроорганізмів і не знищують корисну мікрофлору (високоселективні, на відміну від АР); по-друге, лікування украй рідко викликає алергічні реакції.

Загальновідомим є факт, що віруси розподіляють за їх здатністю інфікувати живі об'єкти. Існують віруси багатоклітинних організмів, одноклітинних організмів, рослин, тварин, грибів. При цьому відзначається висока специфічність вірусів відносно клітин-хазяїв. Так, існують бактеріофаги - віруси бактерій, серед яких, залежно від об'єкту, що інфікується, розрізняють (за деякими класифікаціями) актинофаги - бактеріофаги актиноміцет, мікофаги - бактеріофаги грибів. Іноді віруси грибів розглядають окремо від бактеріофагів. Конкретні віруси, як правило, інфікують мікроорганізми тільки в межах одного роду, виду, іноді конкретного штамму мікроорганізму.

Порівняльна характеристика бактеріофагів, як окремого варіанту вірусів мікроорганізмів, і антибіотиків наведена в таблиці 3.

Клінічна практика показала ефективність використання бактеріофагів при інфекційних захворюваннях шлунково-кишкового тракту, а також при запальних захворюваннях пазух носа, ротової порожнини, верхніх дихальних шляхів, сечостатевої системи, холециститах та інших, викликаних бактеріями, чутливими до фагу.

В той же час, самі віруси і, зокрема, бактеріофаги з непорушеною реплікаційною функцією мають ряд істотних недоліків.

- Вони здатні передавати генетичну інформацію і викликати появу організмів (зокрема - мікроорганізмів) з непередбачуваними властивостями.

- Їх дію в організмі людини і тварин неможливо описати загальноприйнятими механізмами фармо-

кокінетики і фармакодинаміки, стандартно застосованими для усіх лікарських препаратів. На відмінну від антибіотиків, препарати - віруси не тестуються для визначення специфічної активності стандартними для антибактеріальних і протигрибкових речовин методами і методиками, а тільки лише нестандартними методами і методиками, передбаченими для медичних імунно-біологічних препаратів (МІБП) в Росії.

- Бактеріофаги можуть вплинути на загальну екологію при масовому впровадженні. Вони несуть потенційну біологічну загрозу. Якщо АР виводяться з організму людини в концентраціях не здатних вплинути на мікробну екологію, піддаючись ще і багатократному розведенню в довкіллі, то бактеріофаги, навпаки, здатні до розмноження в довкіллі, будучи виведені з виділеннями людини і тварин. Таке розмноження здатне непередбачуваним чином змінювати мікробний пейзаж довкілля, що може викликати екологічну катастрофу.

У науковій літературі описано декілька способів руйнування бактеріофагів, і, відповідно, як окреме, незаплановане слідство, але не більше, порушення реплікаційної функції бактеріофагів:

- проведенням осмотичного шоку шляхом експозиції бактеріофагів в гіпертонічному сольовому розчині протягом декількох хвилин з наступним внесенням їх в гіпотонічний сольовий розчин або воду;

- шляхом повторного заморожування і відтавання водної суспензії бактеріофагів;

- шляхом опромінення суспензії бактеріофагів випромінюванням в ультрафіолетовому діапазоні.

Нами пропонується спосіб, що не вимагає цих додаткових складнощів. Він полягає в тому, що в культурі, яка містить інфіковані бактеріофагом мікроорганізми в процесі внутрішньоклітинної реплікації бактеріофага на етапі, коли сформовані окремі компоненти бактеріофага, але не стався повний збір часток бактеріофага, здійснюється зупинка життєдіяльності клітин обробкою формальдегідом або нагріванням, так, що ферментні системи клітини виявляються нездатними продовжувати подальший збір часток бактеріофага. Після цього бактерійні клітини руйнуються. Руйнування бактерій призводить до вивільнення часток бактеріофага з порушеною реплікаційною функцією. Для визначення часу зупинки життєдіяльності бактеріальних клітин після зараження культури бактеріальних клітин бактеріофагом з цієї культури беруть проби протягом циклу розвитку вірусу (бактеріофага). Частота забору проб залежить від тривалості циклу розвитку вірусу. Виділені проби обробляють хлороформом, нагрівають або по-іншому переривають життєдіяльність бактерій. У кожній пробі визначають наявність часток бактеріофагів, що мають реплікаційну функцію. Виявляють саму ранню за часом пробу, в якій не виявляються бактеріофаги з реплікаційною функцією. Проміжок часу від початку зараження культури бактерійних клітин бактеріофагами до моменту забирання проби, самої ранньої, у якій не виявляються бактеріофаги з реплікаційною функцією, і є тим відрізком часу, після закінчення якого слід позбавити життєдіяльності бактерії, заражені конк-

ретним бактеріофагом в конкретних умовах культивування.

Отриманий високоселективний антибіотик нового системного класу відрізняється від бактеріофагів, які використовуються тим, що він, по суті, являється похідним бактеріофага, що зберіг антимікробну активність, але що не має здатності до реплікації і передачі генетичної інформації. Отримувані препарати відрізняються легким технологічним коригуванням антибактеріальних властивостей, що відбувається шляхом адаптації бактеріофага до нових штамів за рахунок особин мутантів чи тестування нового штаму до великої бібліотеки бактеріофагів або виділення їх із стічних вод чи інших об'єктів довкілля.

Запропонована речовина із специфічною активністю проти мікроорганізмів поєднує в собі позитивні властивості відомих раніше антибактеріальних речовин, як нездатних до реплікації, так і вірусів, при цьому воно позбавлене негативних властивостей і тих, і інших. А саме: ці речовини не мають реплікаційних властивостей, так само, як і антибіотики (а також сульфаніламідів і інші речовини, не здатні до реплікації) і нетоксичні і високоселективні, як бактеріофаги та інші віруси.

Можливе ліофільне висушування, що збільшує терміни зберігання.

Порівняльні характеристики антибіотиків і запропонованих препаратів на основі бактеріофагів з порушеною реплікаційною функцією наведені в таблиці 4.

Способи ідентифікації не є рутинними у фармацевтиці, аналогів за цією ознакою немає.

Зіставлення фізичних і хімічних властивостей не є традиційним.

Фізичні характеристики (лінійні розміри наноб'єктів, що оцінюються в ході стандартного дослідження) і хімічні показники (протеїдний характер наноб'єктів), а також біологічні властивості - специфічна антимікробна активність - усе це разом може бути співвіднесено тільки із впорядкованими біологічними об'єктами. Відсутність генетичної інформації, що авторами заявлено (для виключення негативної ознаки) як опис стандартних тестів, які підтверджують можливість відтворення, відрізняє препарат від аналога - вірусів і бактеріофагів. Інші продукти антибактеріального або антивірусного призначення, що відповідають вказаним ознакам, невідомі.

Приклад 1. Антибактеріальна активність.

З калу пацієнта був виділений *Staphylococcus aureus* у кількості 100 тис. колонієутворюючих одиниць на 1 г фекалій. (Далі в прикладі використання терміну *Staphylococcus aureus* означає, що мається на увазі, саме той штам, який виділений з калу пацієнта).

З колоній мікроорганізму був взятий матеріал, який розподілений на агарі в чашках Петрі таким чином, що на 3-й день культивування був отриманий ріст мікроорганізму. Після цього зробили пересівання на агар в чашці Петрі для підтримки отриманої культури мікроорганізму.

Одночасно культура мікроорганізму була засіяна на агар по методу Грація для визначення кількості бактеріофагів в одиниці об'єму (8 зразків).

Одночасно робили посів на бульйон в 5 мл об'єму (8 зразків).

На 3-й день від початку росту мікроорганізму в пересіяній культурі були узяті проби стічних вод в 6-ти місцях і 2 проби озерної води. Проби об'ємом по 10 мл були профільтровані спочатку через стерильний фільтрувальний папір, а потім через бактеріальні фільтри. Таким чином, в пробах були відсутні бактерії. По 1 мл фільтрату тестували за способом Грація з використанням виділеного штаму *Staphylococcus aureus*. З 4-х проб із стічних вод і 1 проби з озерної води були отримані негативні колонії на газоні зростання *Staphylococcus aureus*. Матеріал негативних колоній, отриманих з 1 проби стічних вод, був перенесений в бульйонну культуру і, при подальшому культивуванні, через 48 годин бульйонна культура була оброблена хлороформом і пропущена через бактеріальний фільтр.

Таким чином, був отриманий фільтрат, що містить бактеріофаги із збереженою реплікаційною функцією і не містить бактерії та гриби з реплікаційною функцією (далі фільтрат, що містить віруси із збереженою реплікаційною функцією і не містить бактерії та гриби з реплікаційною функцією буде позначений як "ФР").

Після цього по 1 мл фільтрату ввели в 3-х денну бульйонну культуру досліджуваного штаму *Staphylococcus aureus*: всього 3 проби по 5 мл бульйону і 1 мл фільтрату. Через 24 години культивовані зразки з введенням фільтратом обробили хлороформом, пропустили через бактеріальні фільтри і з'єднали в одному флаконі.

Таким чином, була підвищена концентрація бактеріофагів із збереженою реплікаційною функцією. Шляхом титрування по методу Грація була визначена концентрація виділеного бактеріофага, що склала 100 тисяч часток в 1 мл стерильного фільтрату. Той же самий фільтрат був заморожений до -10°C і після замерзання розморожений в термостаті при $+20^{\circ}\text{C}$, знову заморожений в рідкому азоті шляхом занурення в нього ємності з фільтратом на 5 секунд і розморожений в термостаті при $+10^{\circ}\text{C}$. Після цього у фільтрат при постійному помішуванні, вводили сухий кристалічний хлорид натрію до припинення розчинення кристалів при $+25^{\circ}\text{C}$. Після цього надсадочну рідину в об'ємі 10 мл перенесли стерильно в стерильну посудину. Далі була узята стерильна дистильована вода. Фільтрат і дистильована вода поступали по окремих трубках, які з'єднувалися в одну, по якій фільтрат, що об'єднався з дистильованою водою, поступав в резервуар для збору продукту. Швидкість надходження фільтрату складала 0,25 мл/хв, швидкість надходження дистильованої води складала 5 мл/хв.

Таким чином, в резервуарі для збору продукту виявилось після закінчення надходження фільтрату 208 мл готового продукту, що не містить бактерій та грибів і містить бактеріофаги з порушеною реплікаційною функцією (далі фільтрат, що не містить бактерій та грибів з реплікаційною функцією, але містить віруси з порушеною реплікаційною функцією буде позначений як "ФВП"), що лізують виділений штам *Staphylococcus aureus*. Деяка кіль-

кість рідини залишилася в трубках. Отриманий продукт був оброблений таким чином, щоб в його складі не було вірусів із збереженою реплікаційною функцією. Готовий продукт при нанесенні на агар в чашці Петрі і введенний в бульйонну культуру в кількості від 0,5 мл запобігав росту виділеного штаму *Staphylococcus aureus*. При цьому готовий продукт не чинив впливу на зростання штаму *Staphylococcus epidermalis*, виділеного з калу того ж пацієнта при нанесенні його на агар в чашці Петрі перед засівом чистої культури *Staphylococcus epidermalis*.

Приклад 2. Протигрибкова активність.

З калу пацієнта був виділений *Candida albicans* у кількості 1 тис. колонієутворюючих одиниць на 1 г. фекалій (далі в прикладі використання терміну *Candida albicans* означає, що мається на увазі саме той штам, який виділений з калу пацієнта). З колоній мікроорганізму був взятий матеріал, який розподілений на середовищі Сабура (*Sabouraud Medium*) в чашках Петрі таким чином, що через 48 годин культивування було отримано зростання мікроорганізму. Після цього здійснили пересівання на рідке середовище Сабура (*Fluid Sabouraud Medium*).

Через 48 годин від початку росту мікроорганізму в пересіяній культурі були узяті проби стічних вод в шести місцях і дві проби озерної води. Проби об'ємом по 10 мл були профільтровані спочатку через стерильний фільтрувальний папір, а потім через бактеріальні фільтри, таким чином, в пробах були відсутні бактерії і гриби. З фільтратів проб були узяті зразки по 1 мл з кожного, які були введені в рідке середовище Сабура з отриманим зростанням *Candida albicans*. Після цього зразки, що містили культуру *Candida albicans* і фільтрати зразків стічних вод або озерної води, культивувалися 48 годин, а потім були окремо пропущені через бактерійні фільтри, внаслідок чого утворились фільтрати, які могли містити віруси, що мають реплікаційну функцію. З кожного із 8 зразків взяли по 1 мл і помістили в рідке середовище Сабура, після чого в неї внесли 1 мл середовища Сабура в об'ємі 10 мл, що містить *Candida albicans* на момент 48 годин його культивування. Після цього проби культивували 48 годин. Далі проби окремо були пропущені через бактеріальні фільтри, і були отримані ФР для кожної проби, тобто 8 ФР.

Кожен ФР був титрований фізіологічним розчином з розведенням в 10 разів (1 масова частка проби і 9 масових часток 0,9 % стерильного розчину хлориду натрію) від 1/10 до 1/10000. По 1 мл кожного розведення і нерозведеної проби вносилося до 10 мл рідкого середовища Сабура, після чого в кожен зразок додавалося 1 мл культури *Candida albicans* в рідкому середовищі Сабура, отриманий як описано вище. Зразки культивувалися 48 годин. Одночасно, як контроль, культивувався зразок середовища Сабура в який ввели 2 мл фізіологічного розчину. Через 60 годин порівняли прозорість зразків в порівнянні з контрольним зразком. У серії титрування 6 з 8 зразків було виявлено пригнічення появи каламутності, пов'язане із зростанням *Candida albicans*. Розведення, що пригнічує зростання гриба, було від 1/10 до 1/1000.

Автори вважають, що титр розведення при якому не відбувається пригнічення росту гриба відповідав 10 і менше часток вірусу в 1 мл ФР, таким чином, в розведенні 1/1000 містилося близько 100 часток вірусу, в розведенні 1/100 - близько 1000 часток, в розведенні 1/10 - близько 10 тис. часток, в нерозведеному препараті - близько 100 тис. часток.

10 мл нерозведеного ФР, що пригнічує ріст *Candida albicans* (близько 100 тис. вірусу в 1 мл) було заморожено до -10°C і після замерзання розморожено в термостаті при $+20^{\circ}\text{C}$, знову заморожено в рідкому азоті і розморожено в термостаті. Після цього у фільтрат, при постійному помішуванні, вводили кристалічний хлорид натрію до припинення розчинення кристалів. Після цього надосадочну рідину в об'ємі 10 мл перенесли в стерильну посудину. Далі фільтрат і дистильована вода надходили по окремих трубках, які з'єднувалися в одну, по якій фільтрат, що об'єднався з дистильованою водою, поступав в резервуар для збору продукту. Швидкість надходження фільтрату складала 0,125 мл/хв, швидкість надходження дистильованої води складала 5 мл/хв. Таким чином, в резервуарі для збору продукту виявилися після закінчення вступу фільтрату 203 мл готового продукту - ФВП, що містить віруси, з порушеною реплікаційною функцією, які пригнічують життєдіяльність мікроорганізмів виділеного штаму *Candida albicans*. Деяка кількість рідини залишилася в трубках, по яких поступали рідини. Отриманий продукт був оброблений таким чином, щоб в його складі не було вірусів із збереженою реплікаційною функцією. Готовий продукт при внесенні в об'ємі 0,5 мл в рідке середовище Сабуро перед внесенням культури грибів, що містяться в рідкому середовищі Сабуро об'ємом 1 мл, отриманою 48 годинним культивуванням грибів *Candida albicans*, отриманих з калу пацієнта, запобігав росту *Candida albicans*. При цьому, готовий продукт не чинив впливу на зростання штаму *Candida albicans*, отриманого із зразка калу іншого пацієнта в аналогічних умовах культивування.

Приклад 3. Антибактеріальна і протигрибкова активність.

Із зразка плями, що з'явилася на стіні в пологовому будинку, узяти посіви для виявлення бактерій і грибів. Були виявлені *Aspergillus niger* і *Mycoplasma pneumoniae*. Виділені колонії обох мікроорганізмів пересіяли на рідкі середовища для вирощування відповідних мікроорганізмів таким чином, що через 48 годин в отриманих зразках було виявлено 10 млн. колоній *Mycoplasma pneumoniae* в 1 мл середовища і 100 тис. колоній *Aspergillus niger* в 1 мл середовища відповідно. Перед цим були узяті проби стічних вод в 6-ти місцях і 2 проби озерної води. Проби об'ємом по 10 мл були профільтровані спочатку через стерильний фільтрувальний папір, а потім через бактеріальні фільтри. З кожного фільтрату проб були узяті зразки по 1 мл, які були введені в співвідношенні 1 мл проби на 10 мл культури мікроорганізмів в рідкому культуральному середовищі і інкубувалися 48 годин. Після інкубації усі проби були пропущені через бактеріальні фільтри індивідуально так, що

утворилися ФР. Кожен зразок ФР був фільтрований через бактеріальні фільтри.

Було виявлено по 1 зразку ФР *Aspergillus niger* і ФР *Mycoplasma pneumoniae*, які містять по 100 тис. вірусних часток в 1 мл ФР. Саме ці ФР були об'єднані в одному флаконі. Загальний об'єм склав 10 мл.

Отриманий зразок був заморожений до -30°C і після замерзання розморожений в термостаті, знову заморожений до -5°C і розморожений в термостаті. Після цього у фільтрат при постійному помішуванні вводили сухий кристалічний хлорид натрію до припинення розчинення кристалів. Після цього отримали супернатант об'ємом 5 мл. Далі супернатант фільтрату і дистильована вода поступали по окремих трубках, які з'єднувалися в одну, по якій супернатант фільтрату, об'єднавшись з дистильованою водою, поступав в резервуар для збору продукту. Швидкість надходження супернатанту фільтрату складала 0,125 мл/хв, швидкість надходження дистильованої води складала 5 мл/хв. Таким чином, в резервуарі для збору продукту виявилось після закінчення вступу супернатанту фільтрату 203 мл готового продукту, що містить віруси (з порушеною реплікаційною функцією) *Aspergillus niger* і *Mycoplasma pneumoniae*. Деяка кількість рідини залишилася в трубках, по яких надходили рідини. Отриманий продукт був оброблений таким чином, щоб в його складі не було вірусів із збереженою реплікаційною функцією. Так був отриманий ФВП, готовий продукт. При нанесенні об'ємом 0,25 мл готового продукту на вказану на початку прикладу пляму, що з'явилася на стіні в пологовому будинку, площею $7-7,5\text{ см}^2$ через 2 години після нанесення продукту узяті проби не виявили *Aspergillus niger* і *Mycoplasma pneumoniae*. В той же час, як до обробки плями, так і потім, висівалися *Candida albicans* і *Staphylococcus epidermalis*.

Приклад 4. Антибактеріальна активність.

Із вмісту фурункула (код L02.0 за Міжнародною Класифікацією хвороб) був виділений мікроорганізм *Proteus vulgaris* у кількості 10 млн. одиниць, що утворюють колонії на 1 г. вмісту фурункула.

З колоній мікроорганізму був узятий матеріал, з якого була отримана культура мікроорганізму в рідкому поживному середовищі, що містить 10,5 млн. одиниць, які утворюють колонії (КУО) в 1 мл. Одночасно була отримана культура мікроорганізму на щільному поживному середовищі. Із зразків стічних вод з 8 різних місць було отримано 8 зразків стерильних фільтратів, які об'ємом по 0,05 мл кожен були поміщені на вирощування на щільному середовищі культуру мікроорганізму. У місцях внесення 3-х зразків стерильних фільтратів був виявлений лізис культури мікроорганізму. Матеріал кожного з 3-х зразків був внесений сумісно до рідкої культури мікроорганізму і через 48 годин культивування з рідкої культури був отриманий ФР. У отриманому фільтраті знаходилося 6 млн. часток бактеріофагів, що лізують виділений штам *Proteus vulgaris*. ФР був оброблений гамма-випромінюванням в стандартному режимі, вживаному для стерилізації медичного устаткування в

шарі рідини завтовшки 2 мм в пластиковій ємності. Після цього фільтрат був заморожений до - 10 °C і розморожений, знову заморожений до - 10 °C і розморожений. По методу Грація, репродуктивних бактеріофагів, в обробленому вищеописаному способі фільтрату, виявлено не було. Був отриманий ФВН.

ФВП був ліофільно висушений так, що в кожному зразку, який знаходиться в скляній ампулі об'ємом 10 мл, знаходилися бактеріофаги з порушеною реплікаційною функцією. Вміст ампули, після розведення його 5 мл 0,9 % розчину натрію хлориду наносили в об'ємі 1 мл на агар в чашці Петрі перед засіванням культури виділеного штаму *Proteus vulgaris*. При стандартному культивуванні росту *Proteus vulgaris* не спостерігалось, проте виявлявся ріст інших мікроорганізмів.

Приклад 5. Протигрибкова активність.

Trichosporon spp. був виділений з волосся людини. Одночасно на рідкому середовищі і на щільному середовищі була отримана культура *Trichosporon* spp. У рідке середовище був введений зразок, що містить бактеріофаг, отриманий з шерсті вівці. Через 105 годин інкубації культури *Trichosporon* spp. сумісно з бактеріофагом був отриманий ФР. ФР був двічі заморожений і після цього розморожений. Так був отриманий ФВП. Отриманий продукт був оброблений таким чином, щоб в його складі не було вірусів із збереженою реплікаційною функцією.

Готовий препарат пригнічував ріст виділеного штаму *Trichosporon* spp. у кількості 0,05 мл на 10 см щільного поживного середовища при нанесенні препарату перед нанесенням зразка *Trichosporon* spp. Препарат був змішаний в співвідношенні 1/10 з маслиною олією. Обробка волосся пацієнта 2 рази в день протягом 5 днів призвела до зникнення симптомів захворювання. У посівах волосся джерело інфекції не було виявлене. При цьому в змивах з волосся визначався *Candida albicans*.

Приклад 6. Антибактеріальна і протигрибкова активність.

З мокроти пацієнта, інфікованого ВІЛ-1, були виділені штами *Cryptococcus neoformans* і *Pseudomonas aeruginosa*.

Обидва мікроорганізми були одночасно посіяні на рідке і тверде поживні середовища.

Після отримання росту культур на поживних середовищах на щільні поживні середовища були внесені стерильні фільтрати, отримані із зразків фекалій пацієнтів інфекційного стаціонару. На середовищах *Cryptococcus neoformans* і *Pseudomonas aeruginosa* в кожній було отримано по 2 зразки руйнування культури бактеріофагами. Із отриманих зразків матеріал був перенесений в рідкі середовища, з яких через 36 годин були отримані ФР по 2 для кожного мікроорганізму. Дані ФР були об'єднані, заморожені в рідкому азоті, розморожені. У отриманий єдиний ФР культур обох мікроорганізмів додавали хлорид натрію при 25 °C до припинення розчинення, утворювався проміжний продукт.

Проміжний продукт вводили краплинним способом (0,05 мл в краплі, по 20 крапель в хвилину), в проточний розчин двічі дистильованої води (10

мл в хвилину). Утворювався ФВП. Отриманий продукт був оброблений таким чином, щоб в його складі не було вірусів із збереженою реплікаційною функцією. Готовий продукт розливали у флакони по 100 мл, призначені для краплинного дозування рідини, отримуючи лікарський препарат.

Готовий продукт вводили в масло какао (на 2 мл масло какао 1 мл готового продукту) і формували супозиторії об'ємом 5 мл. Таким чином, отримували лікарський препарат.

Застосування супозиторіїв ректально 3 рази в день протягом 15 днів призвело до того, що на 16 день в посіві мокроти *Cryptococcus neoformans* і *Pseudomonas aeruginosa* виявлені не були, але при цьому як до лікування, так і потім висівався *Staphylococcus epidermalis*.

Приклад 7. Антибактеріальна активність.

Відносно виявленого штаму *Helicobacter pylori* був отриманий бактеріофаг в рідкому культуральному середовищі. Бактеріофаг був виділений у вигляді ФР, що містить 100 тис. бактеріофагів в 1 мл ФР, був двічі заморожений при - 5 °C, з наступним розморожуванням. Було проведено центрифугування таким чином, що в супернатанті не було виявлено бактеріофагів з реплікаційною функцією. Так отримували ФВП. Отриманий продукт додавали в жувальну гумку у кількості 1 мл ФВН на 1 порцію, отримуючи готовий продукт. Так само отриманий продукт додавали у кількості 1 мл ФВП на 100 мл води, призначеної для пиття.

Застосування модифікованої таким продуктом питної води інфікованим *Helicobacter pylori* пацієнтом, від якого був отриманий штам протягом 20 днів по 200 мл в добу призвело до того, що при дослідженні біоптатів антрального і фундального відділу шлунку методами ПЛР і світлооптичної мікроскопії із забарвленням по Романовському-Гімзе за 35 днів після закінчення прийому модифікованої питної води не виявило наявності *Helicobacter pylori*.

Приклад 8. Протигрибкова активність.

Відносно штаму *Saccharomyces cerevisiae* був отриманий бактеріофаг в рідкому середовищі культивування. Бактеріофаг був виділений у вигляді ФР. З фільтрату був отриманий стерильний фільтрат, що містить бактеріофаги з порушеною реплікаційною функцією. Отриманий продукт був оброблений таким чином, щоб в його складі не було вірусів із збереженою реплікаційною функцією. Готовий продукт додавали до пива (у тому числі в процесі його приготування). При цьому додавання продукту не впливало на звичайний технологічний процес, що підтверджує відсутність впливу продукту на технологічні штами мікроорганізмів.

Приклад 9. Антибактеріальна і протигрибкова активність.

При мікробіологічному дослідженні шкіри пацієнта були виділені: *Propionibacter acne*, *St. aureus*, *Candida albicans*. Відносно штамів *Propionibacter acne*, *St. aureus*, *Candida albicans* були отримані бактеріофаги в рідкому середовищі культивування. ФР були об'єднані в рівних об'ємних концентраціях. Був отриманий об'єднаний ФР, що містить по 10 тис. бактеріофагів, активних відносно кожного з вказаних вище мікроорганізмів. Об'єднаний

ФР насичували розчином хлориду цезію до припинення розчинення хлориду цезію при температурі 37 °С. Після чого отриману рідину об'єднували з дистильованою водою при співвідношенні швидкості надходження ФВП з хлоридом цезію і дистильованої води як 1/20. Так утворювався ФВП. Отриманий продукт був оброблений таким чином, щоб в його складі не було вірусів із збереженою реплікаційною функцією. Готовий продукт вводили в шампунь із співвідношення 10 мл готового продукту на 100 мл шампуню. Застосування шампуню пацієнтом щодня для миття голови і тіла привело до того, що через 20 днів вказані вище умовно-патогенні мікроорганізми (*Propionobacter acne*, *St. aureus*, *Candida albicans*) в посіві, взятому з поверхні тіла пацієнта, не були виявлені. В той же час кількість одиниць *Staphylococcus epidermalis*, що утворюють колонії в посіві з шкіри пацієнта до і після застосування шампуню збільшилося в 1,5 рази.

Приклад 10. Антибактеріальна активність.

Були отримані культури мікроорганізмів: *Micobact. flavum*, *Ps. Fluorescens*, *Bact. Indigonaceum*, *Aerobacter*, *Salmonella*.

Із стічних вод були виділені бактеріофаги, що лізують отримані штами мікроорганізмів кожен окремо. Бактеріофаги були введені в культури мікроорганізмів, кожен в культуру того мікроорганізму, відносно якого був вірулентний бактеріофаг.

Через 60 годин інкубації культур був отриманий стерильний фільтрат культур *Micobact.flavum*, *Ps. Fluorescens*, *Bact. Indigonaceum*, *Aerobacter*, *Salmonella*, що інкубовані спільно з бактеріофагами, до яких ці штами мікроорганізмів були чутливі. Був отриманий ФР, що містить по 1 млн. бактеріофагів, що лізують *Micobact.flavum*, *Ps. Fluorescens*, *Bact. Indigonaceum*, *Aerobacter*, *Salmonella* в 1 мл.

ФР був двічі заморожений при - 10 °С і розморожений при +20 °С, опромінений ультрафіолетовим світлом. Так був отриманий ФВП. Отриманий продукт був оброблений таким чином, щоб в його складі не було вірусів із збереженою реплікаційною функцією. Готовий продукт вводили з розрахунку 1 мл на 1000 мл коров'ячого молока. Молоко не піддавалося пастеризації і іншим методам запобігання мікробній колонізації. Молоко зберігалось в стерильному скляному флаконі, герметично закритому стерильною пластиковою пробкою при температурі 20 °С протягом 10 днів. Після оцінки органолептичних показників через 10 днів зберігання не було виявлено будь-яких відмінностей в порівнянні з отакими до 10 денного зберігання.

Приклад 11. Консервуюча добавка.

Вино, після закінчення періоду часу, коли воно повинне відповідати заявленим виробником органолептичним показникам (на момент готовності), приготоване без використання консервантів, було розділено на 3 порції по 1000 мл кожна. Перша порція була оброблена спалюванням в бутлі фосфору, друга не оброблялася ніяк, в третю порцію ввели препарат. Препарат був отриманий шляхом фільтрації культур 3-х мікроорганізмів ідентифікація яких не проводилася, отриманих з неконсервованого вина попереднього урожаю, в які були вве-

дені зразки бактеріофагів, що знищують ці мікроорганізми, після чого був отриманий ФР. Концентрація ФР складала 100 тис. вірусів кожного з 3-х штамів на 1 мл.

ФР був заморожений в рідкому азоті і розморожений при +20 °С Після цього ФР в десятиразово меншому об'ємі вводили в дистильовану воду.

Отримували ФВП. Отриманий продукт був оброблений таким чином, щоб в його складі не було вірусів із збереженою реплікаційною функцією.

У зразку вина, обробленому з використанням ФВП з розрахунку 1 мл на 100 мл, за органолептичними показниками не було виявлено відмінностей в порівнянні із зразком вина на момент його готовності.

Приклад 12. Консервуюча добавка.

Для дослідження використовували 2-х корів вагою 545 і 560 кг перед забоєм. З яловичини, доставленої в пункт реалізації, були отримані культури мікроорганізмів *Proteus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus Pseudomonas* і *Achromobacter*. З 2-х проб озерної води був отриманий ФР, з якого були отримані бактеріофаги, що руйнують кожен з бактеріофагів по 1 з вказаних мікроорганізмів. Концентрація бактеріофагів була збільшена шляхом культивування на культурах чутливих мікроорганізмів. Після цього знову був отриманий ФР, що містить 100 тис. вірусів відносно кожного мікроорганізму в 1 мл.

ФР був оброблений ультрафіолетовим світлом в шарі 2 мм при експозиції 5 сек. Після цього, рідина насичувалася хлоридом натрію при 25 °С до припинення розчинення кристалів солі і змішувалася в співвідношенні 1/10 з більшою за об'ємом дистильованою водою. Утворювався ФВП. Отриманий продукт був оброблений таким чином, щоб в його складі не було вірусів із збереженою реплікаційною функцією.

Готовий продукт, активний відносно мікроорганізмів *Proteus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus Pseudomonas* і *Achromobacter*, був введений внутрішньосудинно корові вагою 545 кг за 1 годину до забою.

Корови були забиті з інтервалом 20 хвилин, спочатку вагою 545 кг, потім вагою 560 кг. Через 1 годину після забою були оцінені органолептичні показники м'яса забитих корів вагою 545 кг (зразок 1) і 560 кг (зразок 2). Органолептична оцінка не виявила відмінностей.

М'ясо корови вагою 545 кг зберігалось при температурі +10 °С в окремому контейнері (зразок 3).

М'ясо корови вагою 560 кг зберігалось при температурі +10 °С в окремому контейнері (зразок 4).

Через 10 днів зберігання були оцінені органолептичні показники зразків м'яса (зразки 3 і 4).

Порівняння органолептичних показників зразка 3 в порівнянні із зразками 1 і 2 виявило незначне збільшення в'язкості зразка 3.

Порівняння зразка 4 із зразками 1 і 2 виявило: появу у зразка 4 запаху, оціненого як "гнильний", зміна кольору поверхні зразка в синій бік спектру, істотне підвищення в'язкості.

Приклад 13. Консервуюча добавка.

Використовувався ФВП, активний відносно мікроорганізмів *Proteus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas* і *Achromobacter* і *Aspergillus glaucus*, отриманий з ФР що містить по 100 тис. часток вірусів, активних відносно кожного з мікроорганізмів *Proteus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas* і *Achromobacter* і *Aspergillus glaucus* в 1 мл ФР. ФВП був отриманий шляхом заморожування і розморожування ФР, після чого був оброблений ультрафіолетовим світлом в 2 мм об'ємі з експозицією по 5 секунд на кожен зразок. ФВП був оброблений таким чином, щоб в його складі не було вірусів із збереженою реплікаційною функцією.

Готовий продукт був нанесений на поверхню 2 кг баранини в об'ємі 2 мл.

При зберіганні обробленого вказаним способом м'яса і необробленого при температурі +5 °C протягом 10 днів було виявлено, що на поверхні обробленого зразка ріст мікроорганізмів *Proteus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas* і *Achromobacter* і *Aspergillus glaucus* не виявлений.

Приклад 14. Дезинфікуючий засіб.

З дерева, яке було частиною будинку, що зруйнувалося із-за неоднорідності дерев'яних компонентів, були взяті зразки, з яких були виділені культури бактерій і грибів, відносно яких (бактерій і грибів) були виявлені бактеріофаги, що викликають їх лізис. Всього було виявлено 3 гриба і 7 бактерій. Класифікація мікроорганізмів не проводилася. З отриманих бактеріофагів був отриманий ФР, що містить по 100 тис. часток бактеріофагів з порушеною реплікаційною функцією в 1 мл шляхом осмотичного лізису, а саме: ФР поміщався в розчин хлориду натрію, в який додавався хлорид натрію при температурі 25 °C до припинення розчинення солі протягом 45 хвилин. Після цього надосадочний розчин зливали і об'єднували в співвідношенні 1/25 з двічі дистильованою водою. Утворювався ФВП. Отриманий продукт був оброблений таким чином, щоб в його складі не було вірусів із збереженою реплікаційною функцією.

Обробка дерев'яних конструкцій готовим продуктом із розрахунку 0,5 мл на м² поверхні не виявила зменшення щільності конструкцій протягом 3 років.

Приклад 15. Визначення специфічної активності і гострої токсичності препарату бактеріальних вірусів з порушеною реплікаційною функцією в стандартних доклінічних випробуваннях.

У Санкт-Петербурзькому інституті токсикології було досліджено фармакологічну властивість бактеріофага з порушеною реплікаційною функцією [5]. Дослідження проводилися порівняно з антибіотиками з відомими МПК (мінімально пригнічуючими концентраціями) методом дифузії в агар (in vitro) і внутрішньоочеревинним введенням в моделі генералізованої інфекції (див. таблицю 5).

На підставі проведених досліджень (приклади 1-15) можна зробити наступні висновки:

а) результати токсикометрії, дані некропсії і спостережень за експериментальними тваринами в постінтоксикаційному періоді гострого отруєння дозволяють віднести лікарську форму препаратів до V класу практично нетоксичних лікарських ре-

човин [5]. Отже, новий препарат має виражену антимікробну дію в концентраціях, порівняних з ефективними дозами антибіотиків. Він має ширший спектр дії в порівнянні з більшістю антибіотиків вживаних в медичній практиці;

б) результати вивчення антибактеріальної активності препаратів in vitro наведені в таблицях 6 і 7.

Результати досліджень, наведені в таблиці 6, свідчать про високу ефективність представленого бактеріофага з порушеною реплікаційною функцією відносно тест-мікрофлори. На синьгнійну паличку препарати діють слабкіше.

Дані таблиці 7 підтверджують бактерицидну дію представленого бактеріофага з порушеною реплікаційною функцією по відношенню до різних видів мікробів.

В експериментах in vivo встановлено, що на моделі, генералізованої стафілококової інфекції мишей, представлений бактеріофаг з порушеною реплікаційною функцією, виявив лікувальний ефект. При його введенні лише одна миша загинула в першу добу досліду. Далі летальності тварин не відзначалося.

У контрольній групі інфікованих тварин, які не отримували препарати, що вивчалися, відмічена 100 % загибель мишей протягом першої ж доби після зараження. Дані відображені в таблиці 8.

Нині є технічні можливості для культивування більшості відомих бактерій і грибів. У кожному конкретному випадку умови культивування бактерій і грибів визначаються конкретною сукупністю фізичних і хімічних умов середовища, що оточує бактерії і гриби, які культивуються. Проте, саме можливість реплікації бактерій і грибів є підтвердженням їх життєздатності. Таким чином, усі відомі бактерії і гриби відносно яких доведена їх життєздатність можуть бути культивовані (вирощені за бажанням).

Відома мінливість вірусів, використовуючи яку можна природним чином (виділяючи із зразків довілля) або штучним чином (повторно заражаючи відомими вірусами бактерії і гриби з метою отримання генетично відмінних зразків) отримати віруси, до яких чутливі конкретні зразки бактерій та/або грибів.

Не можна стверджувати, що усі таксономічні класи бактерій і грибів описані нині. Так, мікроорганізм *Helicobacter pylori* був спочатку описаний, як *Campylobacter pyloridis*. Але, тим паче, і у той час, була можливість виділення бактеріофага, чутливого до нього. Така можливість була і на момент опису кокових мікробів в слизовій оболонці шлунку, виявлених раніше. Отже, навіть за відсутності впевненості у виявленні нового таксономічного класу бактерій і грибів, але за наявності підстав в його участі в небажаних змінах, можливо виявити вірус саме до цієї бактерії або до цього гриба.

Відомі різні способи позбавлення вірусів реплікаційної функції, при збереженні функції вірусів змінювати життєдіяльність клітин бактерій і грибів. Нами запропонований ще один такий раніше невідомий спосіб.

Таким чином, запропоноване технічне рішення дозволяє отримувати низькотоксичні агенти, що мають здатність специфічно зв'язуватися з бакте-

ріями і грибами, як з мікробіологічно ідентифікованими, так і з не ідентифікованими, як в живих організмах, так і поза ними, а також пригнічувати їх життєдіяльність.

Список літератури:

1. PHAGE THERAPY: BACTERIOPHAGES AS ANTIBIOTICS Elizabeth Kutter, Evergreen State College, Olympia, WA 98505 - Nov. 15, 1997.

2. US Patent. Lys K Endolysin Is Synergistic with Lysostaphin Against MRSA, Inventors: David M. Donovan Stephen C Becker, IPC8 Class: AA61K3848FI, USPC Class: 424 9467, Patent application number: 20100021450;

3. Пептидогликанлизирующие ферменты бактериофагов - перспективные противобактериальные агенты, К.А. МИРОШНИКОВ, О.В. ЧЕРТКОВ и

др., Успехи биологической химии, т. 46, 2006, с. 65-6985.

4. Министерство образования Российской Федерации, Кемеровский технологический институт пищевой промышленности, И.А. Еремина, Н.И. Лузина, О.В. Кригер, Микробиология продуктов растительного происхождения Учебное пособие, Кемерово 2003 г.

5. ФЕДЕРАЛЬНОЕ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОЕ АГЕНТСТВО, ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ ИНСТИТУТ ТОКСИКОЛОГИИ, «ОТЧЕТ об экспериментальном изучении фармакологической активности и токсичности препарата «Вицинале» производства ЗАО «Петрохим», Научный руководитель доктор медицинских наук, профессор СП. Нечипоренко, г. Санкт-Петербург, 2006 г.

Таблица 1

Порівняльна характеристика бактеріофагів і препаратів ферментів бактерій

Порівнювальні особливості	Ферменти бактеріофагів	Бактеріофаги
Частота розвитку вторинної резистентності	Не вивчена	Не характерно
Профілактичне використання	Не вивчено, теоретично не ефективно	Широко використовується
Тривалість створення нового препарату	За відсутності ефекту - десятки років	Від декількох днів до декількох місяців
Здатність проникати в різні тканини	Від високої до дуже низької	Дуже висока
Концентрація в інфекційному осередку	Визначається фізико-хімічними характеристиками макрооб'єкту і ферментного препарату	За рахунок специфічного зв'язування велика частина препарату виявляється саме там, де знаходиться причинний агент
Тривалість специфічної активності в осередку дії	Хвилини, швидко нейтралізуються фізичними, хімічними і біологічними чинниками	В організмі людини і тварин - близько 24 годин, в інших об'єктах, за відсутності шляхів виділення речовини - 5 років і більш
Вплив на ферментні і імунні системи організму	Множинні, у тому числі, - сенсibiliзація і анафілаксія, активація системи знищення ксенобіотиків, активація компліменту	Не описано
Рациональна комбінація з іншими антибактеріальними препаратами	Залежить від класу антибактеріальних засобів і може бути за типом сумачії, потенціювання і т.д., залежно від точок прикладення дії препарату на бактерійну клітину	Завжди за типом взаємного потенціювання, за попередніми даними незалежно від класу препарату
Сумісність з іншими медикаментами	Невідомо	Повна, в тому числі і з антибіотиками
Активність по відношенню до патогенних мікробів	Вражають близько 90 % цільових мікроорганізмів. Вражають і внутрішньовидові непатогенні штами мікроорганізмів	Число чутливих штамів патогенних мікробів складає 70-90 %. Не впливають на облигатну мікрофлору організму

Таблиця 2

Порівняльні особливості бактеріофагів із порушеною і збереженою реплікаційною функцією

Найменування ознак	Бактеріофаги із порушеною реплікаційною функцією	Бактеріофаги з реплікаційною функцією
Здатність до розмноження	-	+
Здатність до утворення мутантних форм в процесі лікування	-	+
Виділення життєздатних форм довкілля з можливістю безконтрольної зміни мікробного пейзажу довкілля	-	+
Можливість передачі небажаної генетичної інформації мікроорганізмам в організмі людини, тварин і довкіллі	-	+
Необхідність контролю біологічних властивостей при зміні властивостей бактеріофагів	-	+
Умови зберігання	Переносять заморожування і зберігання при температурах до 70 °C	Заморожування недопустиме, зберігаються при температурі +2-+8 °C
Необхідність контролю властивостей при зміні властивостей бактеріофагів	-	+

Таблиця 3

Порівняльна характеристика бактеріофагів і антибіотиків

Порівнювальні особливості	Антибіотики	Бактеріофаги
Частота розвитку вторинної резистентності	Від незначної до дуже високої	Не характерно
Профілактичне використання	Неефективно, протипоказано	Широко використовується
Тривалість створення нового препарату	Від декількох років до десятиліть	Від декількох днів до декількох місяців
Здатність проникати в різні тканини	Від високої до дуже низької для різних препаратів	Дуже висока
Концентрація в інфекційному осередку	Відрізняється для різних препаратів, залежить від локалізації процесу, швидкість зниження різна	Наростає шляхом саморозмноження, знижується після ліквідації інфекції
Вплив на ферментні системи організму	Характерно для всіх препаратів	Не описано
Наявність побічних ефектів і ускладнень	Алергічні, токсичні, конкурентні (відносно інших медикаментів), дизбіотичні зміни різних органів, у тому числі - важкі (псевдомембранозний коліт, асоційований з <i>Clostridium difficile</i>)	Не характерно. Рідко - алергічні реакції. Можуть викликати реакцію вивільнення при масивному руйнуванні мікробів. Дизбіотичних порушень не викликають, але використовуються для їх корекції.
Рациональна комбінація з іншими антибактеріальними препаратами	Залежить від класу антибактеріальних засобів і може бути за типом сумачії, потенціювання і т. д., залежно від точок прикладення дії препарату на бактерійну клітину	Завжди за типом взаємного потенціювання, за попередніми даними незалежно від класу препарату.
Сумісність з іншими медикаментами	Різна, (конкуренцією за ферментні системи, зв'язування з тканинами, посилення токсичних ефектів та ін.).	Повна, у тому числі і з антибіотиками
Активність відносно патогенних мікробів	Різна. Пригнічують облигатну флору організму, викликаючи дизбіотичні порушення. Число чутливих штамів складає 60-90 %.	Число чутливих штамів складає 70-90 %. Не впливають на облигатну флору організму, не викликають дизбіоз

Таблиця 4

Порівняльні характеристики антибіотиків і препаратів на основі бактеріофагів з порушеною реплікаційною функцією

Властивість	Антибіотики і антимікробні речовини хімічного походження	Бактеріофаги з порушеною реплікаційною функцією
Токсичність в терапевтичних дозах	Залежить від класу речовини, типу метаболізму. Завжди потенційно присутній	Немає
Відмінність між середньою терапевтичною і токсичною дозою	Менш ніж 10 разів	Більш ніж в 100 разів
Тератогенний ефект	Відмічений у багатьох класів препаратів	Відсутній
Необхідність корекції дози при порушенні функції нирок або печінки	Вимагається для багатьох, залежить від шляху метаболізму	Не вимагається
Можливість зміни спектру антимікробної активності	Відсутня	Є
Розвиток вторинної резистентності	За рахунок індукції самим препаратом і за рахунок селекції мінорного числа первинно резистентних мікробів субінгібіторними концентраціями.	Тільки за рахунок селекції мінорного числа первинно резистентних мікробів. Не індукують вторинну резистентність
Мутагенний ефект	Можливий	Ні
Накопичення в м'ясі тварин при застосуванні у ветеринарії	Так	Ні
Потенціювання розвитку вторинно резистентних штамів (у тому числі, циркулюючих серед людей), як наслідок ветеринарного профілактичного застосування	Так	Ні
Селективність відносно патогенної і непатогенної мікрофлори	Низька або відсутня, не регульована.	100 %, що змінюється, якщо не патогенна флора з якихось причин стає умовно патогенною або патогенною

Таблиця 5

Мінімальна пригнічуюча концентрація (МПК) для бактеріофагів з порушеною реплікаційною функцією in vitro (мкл/мл)

Препарат	Тест-мікроб					
	E.coli	Ps.aeruginosa	St. Aureus	Cl. difficile	C. albicans	S.typhisuis
Бактеріофаг	2.0	2.0	0.2	0.2	2.0	2.0
Тетрациклін	0.5-100.0*	3.0-100.0*	0.1-100.0*	0.1-100.0	стійк.	1.0-2.5
Левоміцетин	0.5-200.0*	10.0-200.0*	0.5-100.0*	1.0-50.0	стійк.	0.8-5.0

* - і більше; другий інтервал мінімальних пригнічуючих концентрацій антибіотиків наводиться для стійких штамів збудників захворювань

Таблиця 6

Антибактеріальна активність бактеріофагів з порушеною реплікаційною функцією методом дифузії в агар

Вид мікроорганізму	Затримка росту, мм
S.aureus	31±2
P.aureginosa	23±3
E.coli	29±2
B.subtilis	34±3

Таблиця 7

Антибактеріальна активність бактеріофагів з порушеною реплікаційною функцією (за даними методу серійних розведень)

Тест культури	4 ⁻³	8 ⁻³	16 ⁻²	32 ⁻²	64 ⁻²	125 ⁻¹	0,25	0,5	1	2	4	8
S.aureus	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
P.aureginosa	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
E.coli	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
B.subtilis	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-

Примітка: "+" наявність росту, "-" відсутність росту

Таблиця 8

Результати лікування генералізованої стафілокової інфекції мишей бактеріофагами з порушеною реплікаційною функцією

Препарати	Загибель мишей по дням				% загибелі за 10 днів
	1	2	3	4-10	
Бактеріофаг з порушеною реплікаційною функцією	1/6	0/6	0/6	0/6	17
Контроль	6/6	-	-	-	100

Примітка: у чисельнику - число загинувших мишей, у знаменнику - число випробуваних тварин.