



Оригинальная статья / Research article

Разработка и изучение ушных капель с бактериофагами для лечения инфекционных отитов, осложненных *P. aeruginosa*

Е. О. Бахрушина¹✉, М. Н. Анурова^{1,2}, С. С. Бочкарева², А. М. Воробьев², Ю. О. Щербина¹,
М. А. Пасивкина^{1,2}, Л. О. Крехтунова¹, Н. Б. Демина¹, А. В. Алешкин²

¹ ФГАУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Институт фармации имени А. П. Нелюбина, 119571, Россия, г. Москва, пр-т Вернадского, д. 96, корп. 1

² ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора, 125212, Россия, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 10

✉ Контактное лицо: Бахрушина Елена Олеговна. E-mail: bachrauschenh@mail.ru

ORCID: Е. О. Бахрушина – <https://orcid.org/0000-0001-8695-0346>; М. Н. Анурова – <https://orcid.org/0000-0002-7649-9616>; С. С. Бочкарева – <https://orcid.org/0000-0002-4751-7416>;
А. М. Воробьев – <https://orcid.org/0000-0003-4724-2464>; Ю. О. Щербина – <https://orcid.org/0000-0001-5079-7669>; М. А. Пасивкина – <https://orcid.org/0000-0001-6223-1347>;
Л. О. Крехтунова – <https://orcid.org/0000-0002-2893-3748>; Н. Б. Демина – <https://orcid.org/0000-0003-4307-8791>; А. В. Алешкин – <https://orcid.org/0000-0002-0532-1378>.

Статья поступила: 09.11.2021

Статья принята в печать: 10.03.2022

Статья опубликована: 25.05.2022

Резюме

Введение. Инфекционные отиты наружного и среднего уха способны вызывать потерю слуха, что существенно снижает качество жизни пациентов. Основными возбудителями острого бактериального отита являются *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*. Статья посвящена разработке и изучению новой лекарственной формы для лечения инфекционных отитов, содержащей бактериофаги, лизирующие бактериальные штаммы *Pseudomonas aeruginosa*. Препараты бактериофагов могут быть альтернативой препаратам антибиотиков местного действия, используемых в оториноларингологической практике по всему миру. В качестве перспективной лекарственной формы для инстилляции в ушной проход рассматривались ушные капли.

Цель. Целью работы является разработка лекарственной формы бактериофагов *Pseudomonas aeruginosa* для местного лечения инфекционных отитов.

Материалы и методы. Действующими веществами разрабатываемого препарата являются бактериофаги, лизирующие бактериальные штаммы *Pseudomonas aeruginosa*: PA5 и PA10, полученные методом выращивания на плотной питательной среде в матрасах с последующей стерилизующей фильтрацией через мембранный фильтр (0,22 мкм) и освобождением от эндотоксина на хроматографической колонке. Для получения экспериментальных составов использовались эксципенты, не вызывающие падения титра бактериофагов – растворитель вода очищенная, модификаторы вязкости глицерин (ООО ТД «ХИММЕД», Россия) и смесь макрогола 6 и глицерил каприлокапрата марки Softigen® 767 (CREMER, Германия), антиоксидант этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА), консерванты нипагин и нипазол. Полученные образцы стандартизовали по фармакопейным показателям, рекомендуемым для лекарственной формы капли: плотность, pH, вязкость. Для всех экспериментальных составов изучали стабильность титра бактериофагов по методу Грация в течение 12 месяцев, также исследовали местораздражающее и системное действие на пяти кроликах самцах породы шиншилла.

Результаты и обсуждение. В результате проведенных исследований получено четыре экспериментальных состава ушных капель с коктейлем бактериофагов PA5 и PA10. Оптимальным технологическими характеристиками обладал состав, содержащий глицерин в качестве модификатора вязкости в концентрации 10,0 %. Для этого образца установлены стабильность титра бактериофагов PA5 и PA10, отсутствие местнораздражающего и системного действия.

Заключение. По итогам проведенных исследований лекарственная форма может быть рекомендована к проведению доклинических исследований, а после проведения дополнительных испытаний на других бактериофагах – для применения в персонализированной фаготерапии.

Ключевые слова: ушные капли, бактериофаги, инфекционный отит, *Pseudomonas aeruginosa*, персонализированная терапия

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Е. О. Бахрушина, М. Н. Анурова, А. М. Воробьев и Ю. О. Щербина придумали и разработали эксперимент. С. С. Бочкарева и Ю. О. Щербина провели исследования местнораздражающего и системного действия на животных. А. М. Воробьев, М. А. Пасивкина и Л. О. Крехтунова проводили микробиологические исследования *in vitro*. М. А. Пасивкина и Л. О. Крехтунова участвовали в обработке данных. Е. О. Бахрушина проводила теоретические расчеты. Е. О. Бахрушина, М. Н. Анурова и А. М. Воробьев участвовали в написании текста статьи. Н. Б. Демина и А. В. Алешкин участвовали в рецензировании и одобрении статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

Для цитирования: Бахрушина Е. О., Анурова М. Н., Бочкарева С. С., Воробьев А. М., Щербина Ю. О., Пасивкина М. А., Крехтунова Л. О., Демина Н. Б., Алешкин А. В. Разработка и изучение ушных капель с бактериофагами для лечения инфекционных отитов, осложненных *P. aeruginosa*. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2022;11(2):74–78. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-2-74-78>

- © Бахрушина Е. О., Анурова М. Н., Бочкарева С. С., Воробьев А. М., Щербина Ю. О., Пасивкина М. А., Крехтунова Л. О., Демина Н. Б., Алешкин А. В., 2022
© Bakhrushina E. O., Anurova M. N., Bochkareva S. S., Vorobev A. M., Shcherbina Yu. O., Pasivkina M. A., Krekhtunova L. O., Demina N. B., Aleshkin A. V., 2022

Development and Study of Bacteriophage-containing Dosage Form for the Treatment of the Outer Ear Infections

Elena O. Bakhrushina¹✉, Maria N. Anurova^{1,2}, Svatlana S. Bochkareva², Alexey M. Vorobev², Yulia O. Shcherbina¹, Maria A. Pasivkina¹, Lika O. Krekhtunova¹, Natalia B. Demina¹, Andrey V. Aleshkin²

¹ I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), A. P. Nelyubin Institute of Pharmacy, 96/1, Vernadsky av., Moscow 119571, Russia

² FBIS MRIEM of G. N. Gabrichevsky, 10, Admirala Makarova str. Moscow, 125212, Russia

✉ **Corresponding author:** Elena O. Bakhrushina. **E-mail:** bachrauschenh@mail.ru

ORCID: Elena O. Bakhrushina – <https://orcid.org/0000-0001-8695-0346>; Maria N. Anurova – <https://orcid.org/0000-0002-7649-9616>; Svatlana S. Bochkareva – <https://orcid.org/0000-0002-4751-7416>; Alexey M. Vorobev – <https://orcid.org/0000-0003-4724-2464>; Yulia O. Shcherbina – <https://orcid.org/0000-0001-5079-7669>; Maria A. Pasivkina – <https://orcid.org/0000-0001-6223-1347>; Lika O. Krekhtunova – <https://orcid.org/0000-0002-2893-3748>; Natalia B. Demina – <https://orcid.org/0000-0003-4307-8791>; Andrey V. Aleshkin – <https://orcid.org/0000-0002-0532-1378>.

Received: 09.11.2021

Revised: 10.03.2022

Published: 25.05.2022

Abstract

Introduction. Infectious otitis externa and middle ear can cause hearing loss, which significantly reduces the quality of life of patients. The main causative agents of acute bacterial otitis media are *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. This article is devoted to the development and study of a novel dosage form for treatment of infectious diseases of the external ear containing bacteriophages that lyse bacterial strains of *Pseudomonas aeruginosa*. Ear drops were considered as a promising dosage form for instillation into the ear canal.

Aim. The aim of the work is to develop a dosage form of *Pseudomonas aeruginosa* bacteriophages for the local treatment of infectious otitis media.

Materials and Methods. The active substances of the developed drug are bacteriophages that lyse bacterial strains of *Pseudomonas aeruginosa*: PA5 and PA10, which were obtained by growing on a solid growth medium in mattress flasks with subsequent sterilizing filtration through a membrane filter (0,22 µm) and elimination of endotoxins on a chromatographic column. To obtain experimental compositions, excipients that do not cause a drop in the titer of bacteriophages were used – purified water as the solvent, viscosity modifiers: glycerol (CHIMMED, Russia) and a mix of macrogol 6 and glyceryl caprilcaprate brand Softigen 767 (Cremer, Germany), antioxidant Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), preservatives nipagin and nipazole. The obtained samples were standardized according to pharmacopoeial indicators, recommended for the dosage form "drops" – density, pH, viscosity. For all experimental compositions, the stability of the titer of bacteriophages was studied by the Gratia method for 6 months. The local irritation and systemic effects were also studied on five chinchilla male rabbits.

Results and discussion. As a result of the conducted research, four experimental compositions of ear drops with a cocktail of bacteriophages PA5 and PA10 were obtained. The optimal technological characteristics were observed in the composition containing glycerol as a viscosity modifier at a concentration of 10,0 %. For optimal composition, the stability of the bacteriophages cocktail titer, local irritating and systemic effects were analyzed. The study revealed stability of the bacteriophages PA5 and PA10 titers in the composition of dosage form, and absence of local irritating and systemic effects of ear drops.

Conclusion. The dosage form can be recommended for preclinical studies.

Keywords: ear drops, bacteriophages, otitis externa, *Pseudomonas aeruginosa*, rabbits, local irritation, systemic effect

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Elena O. Bakhrushina, Maria N. Anurova and Alexey M. Vorobiev and Yulia O. Shcherbina came up with and developed an experiment. Svatlana S. Bochkareva and Yulia O. Shcherbina conducted studies of local irritation and systemic effects on animals. Alexey M. Vorobiev, Maria A. Pasivkina and Lika O. Krekhtunova carried out microbiological studies *in vitro*. Maria A. Pasivkina and Lika O. Krekhtunova participated in data processing. Elena O. Bakhrushina carried out theoretical calculations. Elena O. Bakhrushina, Maria N. Anurova and Alexey M. Vorobiev participated in writing the text of the article. Natalia B. Demina and Andrey V. Aleshkin participated in the review and approval of the article. All authors participated in the discussion of the results.

For citation: Bakhrushina E. O., Anurova M. N., Bochkareva S. S., Vorobev A. M., Shcherbina Yu. O., Pasivkina M. A., Krekhtunova L. O., Demina N. B., Aleshkin A. V. Development and study of bacteriophage-containing dosage form for the treatment of the outer ear infections. *Drug development & registration*. 2022;11(2):74–78. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-2-74-78>

ВВЕДЕНИЕ

Инфекционные отиты наружного и среднего уха являются социально значимыми заболеваниями – ежегодно поражая около 31 миллиона человек по всему миру, они способны вызывать потерю слуха, что существенно снижает качество жизни пациентов [1–3].

Основными возбудителями острого бактериального отита являются *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*. Эти бактериальные агенты образуют биопленки с другими опатогенами и уси-

ливают врожденные воспалительные реакции, которые могут способствовать хроническому развитию среднего отита и прогрессированию гнойного воспаления [2]. В ряде случаев *Pseudomonas aeruginosa* вызывает также злокачественный наружный отит – тяжелое заболевание, при котором летальность составляет до 10 %. В странах с высоким уровнем дохода клинические рекомендации по лечению наружного и среднего отита включают антибиотикотерапию и применение пневмококковой конъюгированной вакцины [2].

Следует отметить, что инфекции, вызванные *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*, зачастую плохо поддаются антибактериальной терапии в связи с множественной резистентностью, они устойчивы к действию многих аминогликозидов, цефалоспоринов и фторхинолонов, что снижает эффективность лечебных мероприятий у больных [3, 4].

Применение местных препаратов позволяет достичь более высокой концентрации антибактериального препарата в очаге инфекции, а в результате отсутствия длительного воздействия на бактериальный агент лекарственного вещества в субтерапевтической дозе сводится к минимуму возможность развития резистентности [3]. Местное лечение инфекционных отитов рекомендуется в случае наружного отита и среднего отита с достаточной величиной перфорации барабанной перепонки [2, 3].

Альтернативой препаратам антибиотиков местного действия, используемым в оториноларингологической практике по всему миру, могут быть ушные капли с бактериофагами. Ушные капли являются удобной лекарственной формой для пациентов разных возрастов, обеспечивающей достижение максимальной концентрации в очаге воспаления в короткие сроки [5]. Фаготерапия успешно используется во многих странах мира в качестве инструмента преодоления антибиотикорезистентности и может применяться в рамках реализации персонализированного подхода к лечению пациента [6].

Целью работы является разработка лекарственной формы бактериофагов *Pseudomonas aeruginosa* для местного лечения инфекционных отитов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Действующими веществами разрабатываемого препарата являются бактериофаги, лизирующие бактериальные штаммы *Pseudomonas aeruginosa*: PA5 и PA10, полученные методом выращивания на плотной питательной среде в матрасах с последующей стерилизующей фильтрацией через мембранный фильтр (0,22 мкм) и освобождением от эндотоксина на хроматографической колонке [7].

На основании изучения научной литературы для получения лекарственной формы были выбраны наиболее распространенные и хорошо изученные эксципиенты [7–9]. Анализ лекарственных препаратов в форме ушных капель по данным государственного реестра лекарственных средств на 2021 год показал, что наиболее часто в их состав входят следующие вспомогательные вещества: водно-спиртовые растворы различной концентрации и вода очищенная в качестве растворителей, глицерин в концентрации от 10 до 40 % и макроголы в качестве модификаторов вязкости, антиоксиданты – этилендиаминтетрауксусная кислота и ее соли, натрия тиосульфат, консерванты – хлорбутанола гидрат, бензалкония хлорид, тиомерсал, этанол, а также регуляторы pH.

В качестве растворителей и формообразующих веществ рассматривали возможность использования смесей воды очищенной и глицерина (ООО ТД «ХИММЕД», Россия) в соотношениях 1:2,5 и 1:1,25, макрогола 400 (ООО ТД «ХИММЕД», Россия) в соотношении 1:2,5 и смеси макрогола 6 и глицерил каприлокапрата марки Softigen® 767 (CREMER, Германия) в соотношении 1:2,5. В качестве антиоксиданта вводили этилендиаминтетрауксусная кислоту (ЭДТА), в качестве консервантов использовали парабены, как единственную группу стабилизаторов антимицробной устойчивости, разрешенную для применения в ушных лекарственных формах, обеспечивающую активность в диапазоне pH от 4 до 8 и не оказывающую литического действия на бактериофаги [7, 8]. В зависимости от возможностей производства готовую лекарственную форму можно разливать во флаконы с насадкой, обеспечивающей фильтрацию при эвакуации каждой последующей дозы, что позволит сделать препарат стерильным и исключить консерванты из фармацевтической композиции.

На первом этапе исследования изучали совместимость коктейля бактериофагов в выбранными вспомогательными веществами. Готовили стерильные водные растворы рабочих концентраций эксципиентов, в которые вводили коктейль бактериофагов и контролировали отсутствие падения титра бактериофагов по методу Грация сразу после введения спустя 24 часа и через 14 суток. Хранение экспериментальных образцов осуществляли в герметично запаянных стеклянных флаконах при температуре +5/+8. Затем получали экспериментальные образцы ушных капель, в которые бактериофаги вносили после термической стерилизации в течение 15 мин при температуре 121 °С. Литическая активность бактериофагов в одной капле (0,05 мл) составила 2×10^8 БОЕ PA5 и $2,2 \times 10^8$ БОЕ PA10.

Для всех экспериментальных составов изучали стабильность титра бактериофагов в течение 12 месяцев, определяемого по методу Грация, а также технологические характеристики лекарственной формы – значение pH потенциометрическим методом, на pH-метре pH-410 (АО «Аквилон», Россия) при температуре 20–25 °С, плотность и вязкость на капиллярном вискозиметре Оствальда.

Оценку местнораздражающего и системного действия проводили на пяти кроликах самцах породы шиншилла массой 3,5–4,0 кг. Уход за животными и их содержание осуществляли в соответствии с рекомендациями и требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета ЕС от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях и Хельсинской декларации. Все эксперименты на животных были одобрены этическим комитетом ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского.

Для оценки местнораздражающего действия однократно проводили инстилляцию 3 капель экспериментального состава в одно ухо кролика, второе ухо

оставляли для контроля. Состояние кожи регистрировали визуально ежедневно в течение пяти дней. Отмечали функционально-морфологические нарушения кожи (эритема, отек, трещины, некроз, шелушение, сухость, изъязвления).

Для разрабатываемой лекарственной формы дизайном эксперимента предполагается оказание только местного действия. Для доказательства отсутствия системного действия производили забор крови кроликов из ушной вены через каждые 15 минут, считая от момента введения капель. Титр бактериофагов в крови определяли по методу Грациа. Титрование производили до 5-го разведения. Делали посев из «0», 1, 2, 3, 4 и 5-го разведений [7].

Для обработки результатов использовался пакет статистического анализа для Microsoft Office Excel 2016.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение стабильности титра бактериофагов в присутствии изучаемых вспомогательных веществ показало достоверное отсутствие падения титра, поэтому в дальнейшем эксперименте получали экспе-

риментальные образцы ушных капель на основе всех выбранных эксципиентов, составы приведены в таблице 1. Все образцы представляли собой прозрачные бесцветные или светло-коричневого цвета жидкости, удовлетворяющие требованиям государственной нормативной документации.

Для бактериофагов PA5 и PA10 значение pH, обеспечивающее стабильность титра, составляет 6–8 [5], этому требованию удовлетворяет только состав 2 с значением pH $6,63 \pm 0,02$. Показатели вязкости и плотности у составов 1, 3 и 4 близки, состав 2 обладает максимальными значениями плотности и вязкости. С потребительской точки зрения, ушные капли должны обладать достаточной вязкостью, обеспечивающей отсутствие вытекания из полости ушной раковины, поэтому состав 2 с показателем $3,9950 \pm 0,2$ мПа·с посчитали более перспективным для дальнейшего изучения.

Для этого состава определяли стабильность титра бактериофагов в процессе хранения. В результате проведенных исследований было установлено, что выбранный состав обеспечивает стабильность титра бактериофагов в течение 12 месяцев хранения (таблица 2).

Таблица 1. Составы экспериментальных образцов ушных капель и показатели качества

Table 1. The compositions of the experimental samples of ear drops and pharmacopeial quality indicators

| № | Состав вспомогательных веществ, г Composition of excipients, g | Плотность, г/мл Density, g/ml | pH | Вязкость, мПа·с Viscosity, mPa·s |
|---|---|----------------------------------|-----------------|-------------------------------------|
| 1 | Глицерин 10,0 Нипагин/нипазол (1:3) 0,015 ЭДТА 0,025 Вода очищенная до 50,0 Glycerin 10,0 Nipagin/nipazol (1:3) 0,015 EDTA 0,025 Purified water up to 50,0 | $1,0339 \pm 0,05$ | $5,38 \pm 0,03$ | $1,0339 \pm 0,05$ |
| 2 | Глицерин 20,0 Нипагин/нипазол (1:3) 0,015 ЭДТА 0,025 Вода очищенная до 50,0 Glycerin 20,0 Nipagin/nipazol (1:3) 0,015 EDTA 0,025 Purified water up to 50,0 | $1,1622 \pm 0,06$ | $6,63 \pm 0,02$ | $3,9950 \pm 0,2$ |
| 3 | Макрогол-400 10,0 Нипагин/нипазол (1:3) 0,015 ЭДТА 0,025 Вода очищенная до 50,0 Macrogol-400 10,0 Nipagin/nipazol (1:3) 0,015 EDTA 0,025 Purified water up to 50,0 | $1,0338 \pm 0,05$ | $3,67 \pm 0,02$ | $1,2923 \pm 0,06$ |
| 4 | Softigen® 767 10,0 Нипагин/нипазол (1:3) 0,015 ЭДТА 0,025 Вода очищенная до 50,0 Softigen® 767 10,0 Nipagin/nipazol (1:3) 0,015 EDTA 0,025 Purified water up to 50,0 | $1,0195 \pm 0,05$ | $5,74 \pm 0,03$ | $1,5675 \pm 0,08$ |

Таблица 2. Изучение стабильности титра бактериофагов в ушных каплях (БОЕ / 0,05 мл) при хранении 12 месяцев

Table 2. Stability study of the titer of bacteriophages in ear drops (PFU / 0,05 ml) when stored for 12 months

| Экспозиция Exposition | 24 часа 24 hours | 3 месяца 3 months | 6 месяцев 6 months | 12 месяцев 12 months |
|--------------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|-------------------------|
| Штаммы Strains | | | | |
| PA5 | $2,0 \times 10^8$ | $1,9 \times 10^8$ | $1,5 \times 10^8$ | $3,0 \times 10^7$ |
| PA10 | $2,2 \times 10^8$ | $2,2 \times 10^8$ | $1,0 \times 10^8$ | $1,0 \times 10^7$ |

Следующим этапом исследования было определение местнораздражающего и системного действия.

После однократной инстилляцией трех капель испытуемого образца эритемы и отека тканей внутренней поверхности уха кроликов не наблюдалось, что соответствует отсутствию местнораздражающего действия. Для оценки системного действия проводили забор крови из ушной вены испытуемых животных с интервалом 15 минут в течение 1 часа после введения капель в ухо. Титр бактериофагов в крови определяли по методу Грациа. Для штаммов PA5 и PA10 было показано отсутствие роста негативных колоний.

Таким образом, было доказано отсутствие местнораздражающего и системного действия препарата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенных исследований разработан состав лекарственной формы с коктейлем бактериофагов PA5 и PA10 для применения в терапии инфекционных заболеваний среднего уха, вызванных *Pseudomonas aeruginosa*, обладающая доказанным местным действием и отсутствием местнораздражающего действия. Дальнейшее развитие темы заключается в разработке лекарственной формы, ее показателей, методик их определения и норм, а также в изучении вопросов стабильности в разработанной форме других бактериофагов для использования ее в качестве стандартной основы и применении в персонализированной фаготерапии больных с инфекционными отитами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Nanno F. A., Peek W. Otopical drops containing a novel antibacterial synthetic peptide: Safety and efficacy in adults with chronic suppurative otitis media. *PLoS One*. 2020;15(4):e0231573. DOI: 10.1371/journal.pone.0231573.
2. Schilder A. G. M., Chonmaitree T., Cripps A. W., Rosenfeld R. M., Casselbrant M. L., Haggard M. P., Venekamp R. P. Otitis media. *Nat Rev Dis Primers*. 2016;2(1):16063. DOI: 10.1038/nrdp.2016.63.
3. Brennan-Jones C. G., Chong L. Y., Head K., Tu N., Burton M. J., Schilder A. G. M., Bhutta M. F. Topical antibiotics with steroids for chronic suppurative otitis media. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;2018(6):CD013054. DOI: 10.1002/14651858.CD013054.
4. Чеботарь И. В., Боcharова Ю. А., Маянский Н. А. Механизмы резистентности *Pseudomonas aeruginosa* к Антибиотикам и их регуляция. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2017;19(4):308–319.
5. Ranakusuma R. W., McCullough A. R., Safitri E. D., Pitoyo Y., Widyaningsih W., Del Mar C. B., Beller E. M. Oral prednisolone for acute otitis media in children: a pilot, pragmatic, randomised, open-la-

bel, controlled study (OPAL study) *Pilot Feasibility Stud*. 2020;6:121. DOI: 10.1186/s40814-020-00671-5.

6. Бахрушина Е. О., Анурова М. Н., Алешкин А. В., Демина Н. Б., Краснюк И. И., Пятигорская Н. В., Береговых В. В. Некоторые аспекты применения и создания лекарственных препаратов бактериофагов. *Вестник РАМН*. 2021;76(4):351–360. DOI: 10.15690/vramn1380.
7. Алешкин А. В., Воложанцев Н. В., Веревкин В. В., Красильникова В. М., Мякина В. П., Попова А. В., Светоч Э. А. Композиция антибактериальная для профилактики или лечения госпитальных инфекций (варианты), штаммы бактериофагов, используемые для получения такой композиции. Патент РФ RU 2628312. 2015. Доступно по: https://rusneb.ru/catalog/000224_000128_0002628312_20170815_C2_RU/ Ссылка активна на 22.01.2022.
8. Анурова М. Н., Бахрушина Е. О., Демина Н. Б., Пантелеева Е. С. Обзор современных стабилизаторов микробиологической устойчивости. *Химико-фармацевтический журнал*. 2019;53(6):54–61. DOI: 10.30906/0023-1134-2019-53-6-54-61.
9. Панюшин С. К., Кузнецова Г. В., Мантиков М. А. Антибактериальное средство. Патент РФ RU 2480239. 2013. Доступно по: https://rusneb.ru/catalog/000224_000128_0002480239_20130427_C2_RU/ Ссылка активна на 22.01.2022.

REFERENCES

1. Nanno F. A., Peek W. Otopical drops containing a novel antibacterial synthetic peptide: Safety and efficacy in adults with chronic suppurative otitis media. *PLoS One*. 2020;15(4):e0231573. DOI: 10.1371/journal.pone.0231573.
2. Schilder A. G. M., Chonmaitree T., Cripps A. W., Rosenfeld R. M., Casselbrant M. L., Haggard M. P., Venekamp R. P. Otitis media. *Nat Rev Dis Primers*. 2016;2(1):16063. DOI: 10.1038/nrdp.2016.63.
3. Brennan-Jones C. G., Chong L. Y., Head K., Tu N., Burton M. J., Schilder A. G. M., Bhutta M. F. Topical antibiotics with steroids for chronic suppurative otitis media. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;2018(6):CD013054. DOI: 10.1002/14651858.CD013054.
4. Chebotar I. V., Bocharova Yu. A., Mayansky N. A. Mechanisms and regulation of Antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2017;19(4):308–319. (In Russ.)
5. Ranakusuma R. W., McCullough A. R., Safitri E. D., Pitoyo Y., Widyaningsih W., Del Mar C. B., Beller E. M. Oral prednisolone for acute otitis media in children: a pilot, pragmatic, randomised, open-label, controlled study (OPAL study) *Pilot Feasibility Stud*. 2020;6:121. DOI: 10.1186/s40814-020-00671-5.
6. Bakhrushina E. O., Anurova M. N., Aleshkin A. V., Demina N. B., Krasnyuk I. I., Pyatigorskaya N. V., Beregovykh V. V. Modern tendencies of the use and development of drugs of bacteriophages. *Vestnik RAMN*. 2021;76(4):351–360. DOI: 10.15690/vramn1380. (In Russ.)
7. Aleshkin A. V., Volozhantsev N. V., Verevkin V. V., Krasnikova V. M., Myakina V. P., Popova A. V., Svetoch E. A. Antibacterial composition for the prevention or treatment of hospital infections (versions), bacteriophage strains used to obtain such a composition. Патент RUS RU 2628312. 2015. Available at: https://rusneb.ru/catalog/000224_000128_0002628312_20170815_C2_RU/ Accessed: 22.01.2022. (In Russ.)
8. Anurova M. N., Bakhrushina E. O., Demina N. B., Panteleeva E. S. Modern preservatives of microbiological stability. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2019;6(53):79–86. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2019-53-6-54-61.
9. Paniushin S. K., Kuznetsova G. V., Mantikov M. A. Antibacterial agent. Патент RUS RU 2480239. 2013. Available at: https://rusneb.ru/catalog/000224_000128_0002480239_20130427_C2_RU/ Accessed: 22.01.2022. (In Russ.)