

УДК 338.439.021.1

**Горюк Ю. В.<sup>1</sup>**

канд. вет. наук

**E-mail:** goruku@ukr.net**Кухтин М. Д.<sup>2</sup>**

д-р вет. наук, професор

**E-mail:** kuchtynnic@gmail.com**Горюк В. В.<sup>1</sup>**

канд. вет. наук, доцент

**E-mail:** horiukv@ukr.net**Мізик В. П.<sup>1</sup>**

асистент

**E-mail:** v.p.mizyk@gmail.com<sup>1</sup>Заклад вищої освіти «Подільський державний університет»

Кам'янець-Подільський, Україна

<sup>2</sup>Тернопільський національний технічний університет імені І. Пулюя

Тернопіль, Україна

## ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ ФАГОМАСТ НА ЖИТТЄДІЯЛЬНІСТЬ ІНФУЗОРІЙ ТА СЛИЗОВУ ОБОЛОНКУ ОЧЕЙ КРОЛИКІВ

### Анотація

Фаготерапія є альтернативою в лікуванні бактеріальних інфекцій, спричинених антибіотикорезистентними штамами бактерій, в тому числі і маститу у корів. Препарати на основі бактеріофагів для лікування корів за маститу мають відповідати нормам, які, зазвичай, застосовуються до фармацевтичних продуктів. Метою роботи було дослідити вплив фагового препарату Фагомаст на життєдіяльність інфузорії *Tetrachytena pyriformis* та його можливу подразнюючу дію на слизову оболонку очей кроликів. Для цього використано паспортизований музейний штам інфузорії *Tetrachytena pyriformis* WH-14 відповідно до загальноприйнятих рекомендацій. Оцінку шкідливої (подразнюючої) дії розчинів фагового препарату на слизові оболонки ока кролика здійснювали з дотриманням всіх біоетичних норм поводження з тваринами. Встановлено, за концентрації фагів від  $10^4$  до  $10^9$  БУО/мл у препараті зміни рухової активності та патологічних відхилень у клітинах інфузорій не було. При визначенні місцевої подразнюючої дії Фагомасту на слизових оболонках очей кролика видимих змін не спостерігали, як за внесення препарату за кількості фагових частин  $10^4$  БУО/мл, так і за максимального вмісту  $10^9$  БУО/мл. Отже, проведені токсикологічні дослідження показали, що розроблений нами препарат на основі бактеріофагів Фагомаст для лікування корів за маститу можна рекомендувати для подальших виробничих випробувань.

**Ключові слова:** бактеріофаговий препарат Фагомаст, інфузорія, *Tetrachytena pyriformis*, токсичність, подразнююча дія.

**Вступ.** Мастит у корів – це широко поширене захворювання, яке реєструється на молочних фермах усіх континентів нашої планети і завдає значної шкоди, як тваринам, що виробляють органічне молоко, так і коровам за традиційної технології виробництва молока [1]. При цьому, основна причина поширення маститу – це те, що дане захворювання спричиняється збудниками, які постійно циркулюють в середовищі молочних ферм, та в більшості випадків вони належать до умовно-патогенної або сапрофітної мікрофлори [2]. Дані мікроорганізми за умови лікування маститу антимікробними засобами без належної лабораторної діагностики і визначення ефективної дії біоцидів набувають різного виду резистентності, яка ускладнює перебіг хвороби і застосовувані лікувальні процедури [3].

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** За висновками більшості світових наукових центрів та лабораторій фагова терапія є альтернативою в лікуванні бактеріальних інфекцій, спричинених антибіотикорезистентними штамми бактерій, в тому числі і маститу у корів [4, 5, 6].

Загальноприйнятими вимогами до застосування бактеріофагів як лікарських засобів є їх антибактеріальна активність, титр віріонів, здатність викликати імунну відповідь, взаємодія з іншими лікарськими засобами, здатність зберігати літичну активність протягом тривалого часу [7, 8, 9]. Крім того, одним з ключових моментів успішного лікування бактеріофагами є якість та безпечність фагових препаратів. Для широкого застосування у гуманній або ветеринарній медицині препарати фагів мають виготовлятися відповідно вимог нормативно-правових актів, затверджених регулюючими органами. Вважається, що виробництво препаратів на основі бактеріофагів має відповідати нормам, які, зазвичай, застосовуються до фармацевтичних продуктів для забезпечення високих стандартів якості [10, 11].

Нами розроблено внутрішньоцистернальний препарат Фагомаст для лікування маститу корів на основі бактеріофагу, активного щодо золотистого стафілококу – збудника маститу корів. Лабораторні дослідження встановили, що препарат активно лізує клітини золотистого стафілококу: через 8 годин контакту вірусу і бактерій їх кількість зменшується на один порядок, а через 32 години від початку контакту фагу з біоплівкою бактеріальні клітини не виділяються [12]. Тому наступною частиною досліджень мають бути експерименти, спрямовані на визначення токсичного впливу різних концентрацій препарату на клітини різних організмів. Отримані дані токсикологічних досліджень дозволять проводити етап виробничих досліджень щодо лікування різних форм маститу та встановлення кратності його застосування.

**Метою роботи** було дослідити вплив фагового препарату Фагомаст на життєдіяльність інфузорії *Tetrachymena pyriformis* та його можливу подразнюючу дію на слизову оболонку очей кроликів.

**Методологія дослідження.** Дослідження проведено на кафедрі інфекційних та інвазійних хвороб Закладу вищої освіти «Подільський державний університет». У досліді використано паспортизований музейний штам інфузорії *Tetrachymena pyriformis* WH-14. Під час визначення токсичності фагового препарату Фагомаст дослідження проводили відповідно до методичних рекомендацій [13]. Зокрема, готували у стерильних пробірках розчини препарату по 2 мл з різною кількістю фагових частин від  $10^4$  до  $10^9$  БУО/мл за кімнатної температури та вносили у приготовлені розчини по 0,05 мл 72-годинної культури інфузорії із пептонного середовища. Через 0,5, 1 та 96 год відбирали стерильною піпеткою розчини для проведення мікроскопії (підррахування кількості інфузорій в камері Горяєва та встановлення рухливості клітин) – гострої та хронічної токсичності. Кожне розведення препарату проводили у трьохразовій повторності, а отримані результати піддавали статистичній обробці.

Оцінку шкідливої дії (місцево подразнюючу) створеного фагового препарату проводили на слизових оболонках очей кролика. Кожну концентрацію препарату закапували по 2-3 краплі у кон'юнктивальний мішок одного ока кролика, а друге око слугувало контролем. Препарат вносили двічі на день протягом 5 діб. На одну концентрацію використовували п'ять кроликів. Оцінку шкідливої (подразнюючої) дії розчинів фагового препарату на слизові оболонки ока кролика здійснювали відповідно параметрів, наведених в табл. 1 [14].

**Таблиця 1. Оцінка шкідливої дії нових речовин чи новостворених препаратів на слизові оболонки очей кролика [14]**

А. Гіперемія кон'юнктиви та рогівки	
Судини гіперемійовані	1 бал
Окремі судини погано видно	2 бали
Дифузне глибоке почервоніння	3 бали
Б. набряк повік	
Слабкий набряк	1 бал
Виражений набряк з частковим виверненням повік	2 бали
У результаті набряку око закрите на половину	3 бали
У результаті набряку око закрите більш як на половину	4 бали
В. Виділення	
Мінімальна кількість в кутику ока	1 бал
Кількість виділень зволожує повіки	2 бали
Кількість виділень зволожує повіки та шкіру навколо	3 бали

Статистичну обробку результатів здійснювали методами варіаційної статистики з використанням програми Statistica 6.0 (StatSoft Inc., USA). Застосовували непараметричні методи досліджень (критерії Уїлкоксона, Манна-Уїтні). Визначали середнє арифметичне ( $\bar{x}$ ), стандартну похибку середньої величини (SE). Різницю між порівнюваними величинами вважали достовірною за  $P < 0,05$ .

**Результати досліджень.** На першому етапі дослідження було визначено рухову активність, зміни форми та наявність мертвих клітин інфузорій під час мікроскопії краплі, відібраної із проб препарату з різною кількістю фагових частинок, та порівняно з їх активністю у контрольному – пептонному середовищі. Результати дослідження наведено в табл. 2.

**Таблиця 2. Активність клітин інфузорій *Tetrachymena pyriformis* за впливу бактеріофагового препарату Фагомаст,  $M \pm m$ ,  $n=8$**

Концентрація препарату за кількістю фагів, БУО/мл	Характеристика життєдіяльності культур <i>Tetrachymena pyriformis</i> , бали				
	розмноження	активність та рухливість	неприродні рухи	зміна форми	мертві клітини
до $10^4$	1	0	0	0	0
$10^5$	1	0	0	0	0
$10^6$	1	0	0	0	0
$10^7$	1	0	0	0	0
$10^8$	1	0	0	0	0
$10^9$	1	0	0	0	0
Контроль (допоміжні речовини)	1	0	0	0	0
Контроль (пептонне середовище)	0	0	0	0	0

Примітки: "0" балів – "нетоксичне середовище" – зниження розмноження інфузорій до 20% без порушення рухової активності; "1" бал – "слабо токсичне середовище" – зниження розмноження на 25 – 30% без порушення рухової активності; "2" – бали – "помірно токсичне середовище" – зниження розмноження на 35 – 40% з одночасним зменшенням рухової активності інфузорій, наявність до 10% клітин із зміненими формами; "3" – бали – "виражено токсичне середовище" – зниження інтенсивності розмноження на 50% з

одночасною наявністю до 20% тетрахімен з порушенням рухової активності, зміни форми, наявністю мертвих клітин; "4" – бали – "сильно токсичне середовище" – зниження інтенсивності розмноження інфузорій більше, як 50% з одночасною наявністю значної кількості тетрахімен з порушенням рухової активності, зміни форми (наявність цист, деформацій клітин, коротких, довгих, з вип'ячуванням).

З даних табл. 2 видно, що за концентрації фагів від  $10^4$  до  $10^9$  БУО/мл у препараті зміни рухової активності та патологічних відхилень у клітинах інфузорій не відмічали. Тетрахімени були активними, їх рух характеризувався як прямолінійний та поступовий і не відрізнявся від руху інфузорій, наявних у контрольній пробі (пептонне середовище). При цьому, кількість мертвих клітин не відрізнялася у дослідних пробах і в обох контролях. Враховуючи дані характеристики за активністю і руховою діяльністю інфузорій, усі проби із вмістом бактеріофагів були оцінені як такі, що не чинять токсичного впливу на клітини тетрахімен.

При цьому встановлено зниження розмноження клітин *Tetrachymena pyriformis* у всіх пробах препарату з різною кількістю фагів та контролі з вмістом допоміжних речовин, що входять у склад Фагомасту за 60 хв інкубації (результати табл. 2 та табл. 3). Дане явище ми пояснюємо низькою поживною і біологічною цінністю препарату Фагомаст, адже при недостатній поживності середовища існування інфузорій, інтенсивність розмноження їх істотно знижується, про що повідомляється у методичних рекомендаціях [13]. Результати дослідження кількісного вмісту інфузорій у дослідних пробах та в контролі наведено в табл. 3.

**Таблиця 3. Вплив бактеріофагового препарату Фагомаст на життєдіяльність лабораторно штаму інфузорії *Tetrachymena pyriformis*,  $M \pm m$ ,  $n=8$**

Концентрація препарату за кількістю фагів, БУО/мл	Кількість тетрахімен при мікроскопії (в полі зору), штук, через		Міра токсичності середовища
	0,5 год	1 год	
до $10^4$	$30,4 \pm 1,3$	$30,9 \pm 1,2^*$	Нетоксичне
$10^5$	$30,6 \pm 1,2$	$31,1 \pm 1,3^*$	Нетоксичне
$10^6$	$30,2 \pm 1,1$	$30,9 \pm 1,1^*$	Нетоксичне
$10^7$	$30,5 \pm 1,2$	$31,3 \pm 1,2^*$	Нетоксичне
$10^8$	$30,8 \pm 1,2$	$31,5 \pm 1,1^*$	Нетоксичне
$10^9$	$30,2 \pm 1,2$	$31,0 \pm 1,0^*$	Нетоксичне
Контроль (допоміжні речовини)	$30,3 \pm 1,3$	$31,0 \pm 1,2^*$	Нетоксичне
Контроль (пептонне середовище)	$34,2 \pm 1,4$	$39,7 \pm 1,6$	Нетоксичне

Примітка. \* $p < 0,05$  – порівняно з контролем (пептонне середовище)

З результатів табл. 3 видно, що протягом півгодинної інкубації тетрахімен їх кількість у всіх пробах із вмістом фагу становила, в середньому,  $30,4 \pm 1,2$  шт, у контрольному середовищі з пептоном кількість інфузорій збільшилася до  $34,2 \pm 1,4$  шт. Кількісні зміни інфузорій у контролі, який містив тільки допоміжні хімічні речовини, що входять у склад препарату Фагомаст, не відрізнялися від дослідних проб.

За одногодинної експозиції тетрахімен у дослідних пробах їх кількість достовірно не збільшилася, порівнюючи з 30-хвилинною інкубацією і становила, в середньому,  $31,1 \pm 1,3$  шт. У контрольному пептонному середовищі спостерігаємо збільшення кількості інфузорій приблизно на 21,7% ( $p < 0,05$ ) проти дослідних зразків із вмістом фагів від  $10^4$  до  $10^9$  БУО/мл. Даний процес, як було сказано, відбувається за рахунок відсутності поживних речовин у препараті Фагомаст.

Отже, підсумовуючи результати даного дослідження необхідно зазначити, що розроблений фаговий препарат Фагомаст для лікування маститу корів не спричиняє токсичного впливу на життєдіяльність культур інфузорій *Tetrachymena pyriformis* за умови наявності у його складі фагових частин до  $10^9$  БУО/мл.

Наступним етапом токсикологічних досліджень було визначити місцеву подразнюючу дію різних концентрацій препарату Фагомаст на слизових оболонках очей кролика. Адже лікувальний протимаститний препарат Фагомаст вводиться внутрішньоцистернально, тому проведення такого роду досліджень вважається обов'язковим, так як дозволяє встановити чи не буде препарат проявляти подразнюючої дії [9, 15, 16]. Місцеву подразнюючу (шкідливу) дію препарату за різних концентрацій фагових частин досліджували на слизових оболонках очей кроликів. Результати дослідження наведено в табл. 4.

**Таблиця 4. Оцінка шкідливої (подразнюючої) дії фагового препарату Фагомаст на слизові оболонки очей кролика, n=30**

Реакція слизових оболонок ока	Критерії оцінки в балах	Кількість фагів БУО/мл	Кількість балів
А. Гіперемія кон'юнктиви та рогівки	1-3	10 <sup>4</sup> – 10 <sup>9</sup>	0
Б. Набряк повік	1-4		0
В. Виділення з ока	1-3		0

Протягом періоду тривалості експерименту видимих змін стану слизових оболонок не спостерігали, як за внесення препарату за кількості фагових частин 10<sup>4</sup> БУО/мл, так і за максимального вмісту 10<sup>9</sup> БУО/мл. Усі кролики після закапування Фагомасту відразу відкривали око та в подальшому були рухливі без зміни поведінки.

Отже, на підставі проведеного експерименту можемо стверджувати, що фаговий препарат Фагомаст для лікування маститу корів не спричиняє місцевої подразнюючої дії на слизову оболонку очей кролика за кількості фагових частинок від 10<sup>4</sup> до 10<sup>9</sup> БУО/мл.

**Висновки.** Встановлено, що протимаститний фаговий препарат Фагомаст за концентрації фагових частинок від 10<sup>4</sup> до 10<sup>9</sup> БУО/мл не спричиняв зміни рухової активності та патологічних відхилень у клітинах інфузорій та не проявляв токсичного впливу на життєдіяльність культур *Tetrachylena pyriformis*. Фагомаст не спричиняв місцевої подразнюючої дії на слизову оболонку очей кроликів за дворазового застосування на день протягом п'яти діб підряд. Перспективи подальших досліджень полягають у проведенні експериментів щодо впливу препарату Фагомаст на організм теплокровних тварин (гострий і хронічний дослід).

#### Список використаних джерел

1. Le Maréchal C., Thiéry R., Vautor E., Le Loir Y. Mastitis impact on technological properties of milk and quality of milk products—a review. *Dairy Science & Technology*. 2011. 91(3). P. 247-282. <https://doi.org/10.1007/s13594-011-0009-6>
2. Detilleux J. Tolerance to bovine clinical mastitis: Total, direct, and indirect milk losses. *Journal of dairy science*. 2018. 101(4). P. 3334-3343. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13976>
3. Bogni C., Odierno L., Raspanti C., Giraudo J., Larriestra A., Reinoso E., Vissio C. War against mastitis: Current concepts on controlling bovine mastitis pathogens. *Science against microbial pathogens: Communicating current research and technological advances*. 2011. P. 483-494.
4. Leitner L., Ujmajuridze A., Chanishvili N., Goderdzishvili M., Chkonია I., Rigvava S., Kessler T. M. Intravesical bacteriophages for treating urinary tract infections in patients undergoing transurethral resection of the prostate: A randomised, placebo-controlled, double-blind clinical trial. *The Lancet Infectious Diseases*. 2021. 21(3). P. 427-436. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30330-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30330-3)
5. Alves D. R., Gaudion A., Bean J. E., Perez Esteban P., Arnot T. C., Harper D. R., Jenkins A. T. A. Combined use of bacteriophage K and a novel bacteriophage to reduce *Staphylococcus aureus* biofilm formation. *Applied and Environmental Microbiology*. 2014. 80(21). P. 6694-6703. <https://doi.org/10.1128/AEM.01789-14>
6. Horiuk Y. V. Fagotherapy of cows mastitis as an alternative to antibiotics in the system of

obtaining environmentally safe milk. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies*. 2018. 20(88). P. 42–47. <https://doi.org/10.32718/nvvet8807>

7. Düzgüneş N., Sessevmez M., Yildirim M. Bacteriophage therapy of bacterial infections: The rediscovered frontier. *Pharmaceuticals*. 2021. 14(1). P. 1–16. <https://doi.org/10.3390/ph14010034>

8. Mutti M., Corsini L. Robust approaches for the production of active ingredient and drug product for human phage therapy. *Frontiers in microbiology*. 2019. 10. P. 2289–2295. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02289>

9. Fauconnier A. Phage therapy regulation: from night to dawn. *Viruses*. 2019. 11(4). P. 1–8. <https://doi.org/10.3390/v11040352>

10. Fauconnier A. Regulating phage therapy: The biological master file concept could help to overcome regulatory challenge of personalized medicines. *EMBO Rep*. 2017. 18. P. 198–200. <https://doi.org/10.15252/embr.201643250>

11. Verbeke G.; Pirnay J.-P.; De Vos D.; Jennes S.; Zizi M.; Lavigne R.; Huys I. Optimizing the European Regulatory Framework for Sustainable Bacteriophage Therapy in Human Medicine. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 2012. 60. P. 161–172. <https://doi.org/10.1007/s00005-012-0175-0>

12. Horiuk Y. V., Kukhtyn M. D., Stravskyy Y. S., Klymnyuk S. I., Vergeles K. M., Horiuk V. V. Influence of staphylococcal Phage SA<sub>v</sub>B14 on biofilms, formed by *Staphylococcus aureus* variant *bovis*. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2019. 10(3). P. 314–318. <https://doi.org/10.15421/021948>

13. Методические указания по токсико-биологической оценке мяса, мясных продуктов и молока с использованием инфузории Тетрахимены периформис (экспресс-метод) / [В.М. Лемеш, П.И. Пахомов, А.Е. Янченко т др.]. Витебск: Витебская гос.акад.вет.мед. и Белорусская науч.-исслед. инст. экспер. ветеринарии. 1997. 13с.

14. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / [І. Я. Коцюмбас, О. Е. Малик, І. П. Патерега та ін.]; за ред. І. Я. Коцюмбаса. Львів: Тріада плюс, 2006. 360 с.

15. Kwiatek M., Parasion S., Mizak L., Gryko R., Bartoszcze M., Kocik J. Characterization of a bacteriophage, isolated from a cow with mastitis, that is lytic against *Staphylococcus aureus* strains. *Archives of virology*. 2012. 157(2). P. 225–234. <https://doi.org/10.1007/s00705-011-1160-3>

16. Li L., Zhang Z. Isolation and characterization of a virulent bacteriophage SPW specific for *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis of lactating dairy cattle. *Molecular biology reports*. 2014. 41(9). P. 5829–5838. <https://doi.org/10.1007/s11033-014-3457-2>

Дата надходження статті до редакції: 20.09.2021

Рецензування 12.11.2021 Прийняття в друк: 30.12.2021

**Y. V. Horiuk**<sup>1</sup>

*Ph.D (Veterinary Sciences)*

**E-mail:** goruky@ukr.net

**M. D. Kukhtyn**<sup>2</sup>

*Dr. Sc. (Veterinary Sciences), Professor*

**E-mail:** kuchtynnic@gmail.com

**V. V. Horiuk**<sup>1</sup>

*Ph.D. (Veterinary Sciences), Associate Professor*

**E-mail:** horiukv@ukr.net

**V. P. Mizyk**<sup>1</sup>

*Assistant*

**E-mail:** v.p.mizyk@gmail.com

<sup>1</sup> Higher educational institution «Podillia State University»  
Kamianets-Podilskyi, Ukraine

<sup>2</sup>Ternopil Ivan Puluj National Technical University  
Ternopil, Ukraine

## INFLUENCE OF THE DRUG FAGOMAST ON THE VITAL ACTIVITY OF CILIATES AND THE MUCOUS MEMBRANE OF THE EYES OF RABBITS

### Abstract

Phage therapy is an alternative in the treatment of bacterial infections caused by antibiotic-resistant strains of bacteria, including mastitis in cows. Bacteriophage-based drugs for the treatment of mastitis in cows shall comply with the standards usually applied to pharmaceutical products. The aim of the work is to investigate the effect of the phage drug Fagomast on the vital activity of the ciliate *Tetrachymena pyriformis* and its possible irritating effect on the mucous membrane of the eyes of rabbits. For this purpose, a certified museum strain of the ciliate *Tetrachymena pyriformis* WH-14 has been used in accordance with generally accepted recommendations. To sterile test tubes with drug solutions has been added 0.05 ml of a 72-hour ciliate culture. After 0.5, 1 and 96 hours microscopy has been performed: the number of ciliates in the Goryaev chamber has been counted and their mobility has been determined. Each dilution of the drug has been studied in triplicate. Evaluation of the harmful (irritating) effect of phage drug solutions on the mucous membrane of the eyes of rabbits has been performed in accordance with all bioethical standards of animal handling. Each concentration of the drug has been instilled 2-3 drops into the conjunctival sac of one eye of the rabbit, and the other eye has been served as a control. The drug has been applied twice a day for 5 days. According to the results of research, it has been found that at the concentration of phages from  $10^4$  to  $10^9$  PFU/ml in the drug there is no change in motor activity and pathological abnormalities in the cells of ciliates. When determining the local irritating effect of Fagomast on the mucous membranes of the eyes of a rabbit, no visible changes have been observed both for the applying of the drug in the amount of phage parts of  $10^4$  PFU/ml and at the maximum content of  $10^9$  PFU/ml. Therefore, toxicological studies have shown that the bacteriophage-based drug Fagomast developed by us for the treatment of mastitis in cows can be recommended for further production tests.

**Keywords:** bacteriophage drug Fagomast, ciliate, *Tetrachymena pyriformis*, toxicity, irritating effect.

### References

1. Le Maréchal, C., Thiéry, R., Vautor, E., & Le Loir, Y. (2011). Mastitis impact on technological properties of milk and quality of milk products—a review. *Dairy Science & Technology*, 91(3), 247-282. <https://doi.org/10.1007/s13594-011-0009-6>
2. Detilleux, J. (2018). Tolerance to bovine clinical mastitis: Total, direct, and indirect milk losses. *Journal of dairy science*, 101(4), 3334-3343. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13976>
3. Bogni, C., Odierno, L., Raspanti, C., Giraud, J., Larriestra, A., Reinoso, E., & Vissio, C. (2011). War against mastitis: Current concepts on controlling bovine mastitis pathogens. *Science against microbial pathogens: Communicating current research and technological advances*, 483-494.
4. Leitner, L., Ujmajuridze, A., Chanishvili, N., Goderdzishvili, M., Chkonia, I., Rigvava, S., & Kessler, T.M. (2021). Intravesical bacteriophages for treating urinary tract infections in patients undergoing transurethral resection of the prostate: A randomised, placebo-controlled, double-blind clinical trial. *The Lancet Infectious Diseases*, 21(3), 427-436. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30330-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30330-3).
5. Alves, D. R., Gaudion, A., Bean, J. E., Perez Esteban, P., Arnot, T. C., Harper, D. R., & Jenkins, A. T. A. (2014). Combined use of bacteriophage K and a novel bacteriophage to reduce *Staphylococcus aureus* biofilm formation. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(21), 6694-6703. <https://doi.org/10.1128/AEM.01789-14>
6. Horiuk, Y. V. (2018). Fagothrapy of cows mastitis as an alternative to antibiotics in the system of obtaining environmentally safe milk. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, 20(88), 42-47. <https://doi.org/10.32718/nvlvet8807>
7. Düzgüneş, N., Sessevmez, M., & Yildirim, M. (2021). Bacteriophage therapy of bacterial infections: The rediscovered frontier. *Pharmaceuticals*, 14(1), 1-16. <https://doi.org/10.3390/ph14010034>
8. Mutti, M., & Corsini, L. (2019). Robust approaches for the production of active ingredient and drug product for human phage therapy. *Frontiers in microbiology*, 10, 2289. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02289>
9. Fauconnier, A. (2019). Phage therapy regulation: from night to dawn. *Viruses*, 11(4), 1-8. <https://doi.org/10.3390/v11040352>
10. Fauconnier, A. Regulating phage therapy: (2017). The biological master file concept could help to overcome regulatory challenge of personalized medicines. *EMBO Rep*, 18, 198-200.

<https://doi.org/10.15252/embr.201643250>.

11. Verbeke, G., Pirnay, J.-P., De Vos, D., Jennes, S., Zizi, M., Lavigne, R., & Huys, I. (2012). Optimizing the European Regulatory Framework for Sustainable Bacteriophage Therapy in Human Medicine. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, *60*, 161–172. <https://doi.org/10.1007/s00005-012-0175-0>.

12. Horiuk, Y. V., Kukhtyn, M. D., Stravskyy, Y. S., Klymnyuk, S. I., Vergeles, K. M., & Horiuk, V. V. (2019). Influence of staphylococcal phage SAvB14 on biofilms, formed by *Staphylococcus aureus* variant bovis. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, *10*(3), 314–318. <https://doi.org/10.15421/021948>.

13. Lemesh, V.M., Pakhomov, P.I., Yanchenko, A.Ye., Titova, L.G., & Anisimova, N.N. (1997). *Metodicheskie ukazaniya po toksiko-biologicheskoy otsenke myasa, myasnykh produktov i moloka s ispolzovaniem infuzorii Tetrakhimeny periformis* (ekspress-metod) [Methodical instructions for toxic biological evaluation of meat, meat products and milk using infusoria *Tetrachimenes periformis* (express method)] Guidelines. Vitebsk: Vitebskaya gos.akad.vet.med. i Belorusskaya nauch.-issled. inst. eksper. veterinarrii (in Russian).

14. Kotsiumbas, I. Ya., Malyk, O. H., & Patereha, I. P. (2006). *Doklinichni doslidzhennia veterynarnykh likarskykh zasobiv*. Lviv: Triada plus. (in Ukrain).

15. Kwiatek, M., Parasion, S., Mizak, L., Gryko, R., Bartoszcze, M., & Kocik, J. (2012). Characterization of a bacteriophage, isolated from a cow with mastitis, that is lytic against *Staphylococcus aureus* strains. *Archives of virology*, *157*(2), 225–234. <https://doi.org/10.1007/s00705-011-1160-3>.

16. Li, L., & Zhang, Z. (2014). Isolation and characterization of a virulent bacteriophage SPW specific for *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis of lactating dairy cattle. *Molecular biology reports*, *41*(9), 5829–5838. <https://doi.org/10.1007/s11033-014-3457-2>

Received 10/10/2021

Revision 11/12/2021 Accepted 12/30/2021