

© Ширококов В. П., Понятовський В. А., 2024
 УДК 577.18.08+ 578.347
 DOI 10.11603/1681-2727.2024.3.14669

В. П. Ширококов, В. А. Понятовський

ПОЄДНАННЯ АНТИБІОТИКІВ І БАКТЕРІОФАГІВ ДЛЯ БОРОТЬБИ З АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНИМИ МІКРООРГАНІЗМАМИ

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця



*Незважаючи на те, що антибіотики на сьогодні є основним методом боротьби з бактерійними інфекціями, швидка поява та поширеність антибіотикорезистентності викликає інтерес до альтернативних та допоміжних антимікробних стратегій. Особливо це стосується інфекцій, спричинених MDR, PDR та XDR мікроорганізмами. В останні десятиліття були здійснені дослідження бактеріофагів (фагів) і антибіотиків окремо або в комбінації як в умовах *in vitro*, так і *in vivo*. Представлені в огляді матеріали свідчать про синергізм дії фагів та антибіотиків при комбінованому їх застосуванні, хоча в деяких експериментах зафіксовано індиферентну дію і, навіть, антагонізм між фагами та антибіотиками. Перспективними є стратегії використання комбінації фагу-антибіотику у біоплівках, включаючи дозрілі їх форми.*

Ключові слова: бактеріофаги, фагово-антибіотиковий синергізм.

Розвиток стійкості мікроорганізмів до протимікробних препаратів і поява нових штамів з мультирезистент-

ністю на сьогодні стає проблемою планетарного масштабу, яка спричиняє серйозну загрозу для лікування інфекційних хвороб. Антибактерійні препарати, які ще декілька років тому мали високу ефективність, наразі втрачають свої позиції, і можливості їх використання стають доволі обмеженими. На появу та поширеність стійкості до протимікробних препаратів значною мірою впливають надмірне і нерациональне застосування антибіотиків у медицині та сільському господарстві. Також негативний вплив на темпи поширеності має відсутність розробки нових специфічних антибактерійних засобів через зниження економічних стимулів і складність цього процесу. Відповідно до щорічного звіту ВООЗ щодо розробки нових антибактерійних методів лікування, темпів цього процесу на сьогодні недостатньо для подолання зростаючої загрози стійкості до антибіотиків. Клінічні та доклінічні розробки нових препаратів застійні та далекі від задоволення глобальних потреб. З 2017 р. у світі було схвалено лише 12 нових антибіотиків, 10 з яких належать до відомих класів із встановленими механізмами протимікробної резистентності [1].

Відповідно до даних аналізу поширеності антибіотикорезистентності за 2019 р., доведено, що майже 5 млн смертей у світі були пов'язані з антибіотикорезистентністю, а 1,27 млн – безпосередньо спричинені нею [2].

Питання антибіотикорезистентності не меншою мірою актуальне і для України. На території нашої держави в довоєнний період реєструвалися високі рівні стійкості мікроорганізмів до протимікробних препаратів. Так, відповідно до бази даних мережі епідеміологічного нагляду за резистентністю до протимікробних препаратів у Центральній Азії та Східній Європі (CAESAR), в Україні частота виявлення карбапенемрезистентних штамів *Klebsiella*

pneumoniae у 2021 р. становила не менше 64 %, а карбапенемрезистентних *Acinetobacter sp.* не менше 73 % [3]. Початок активних бойових дій на території України призвів до збільшення кількості травматичних поранень і значного навантаження на заклади охорони здоров'я, що своєю чергою призвело до збільшення кількості мікроорганізмів з множиною резистентністю [4].

Зростаючі темпи поширеності резистентності до протимікробних препаратів та недостатня розробка нових класів антибіотиків спонукають дослідників до пошуку альтернатив антибіотикотерапії. Одним із таких варіантів є фаготерапія. У роки після відкриття бактерійних вірусів Frederik Twort (1915 р.) і Felix d'Herrelle (1917 р.) і до періоду появи та широкого клінічного використання антибіотиків, бактеріофаги були однією із великих надій для контролю та лікування бактерійних інфекцій. Але з 1940-х років минулого століття більшість досліджень зосередилися на антибіотикотерапії як оптимальному методі боротьби з бактерійними інфекціями. Бактеріофаги переважно використовували як об'єкт молекулярно-біологічних досліджень [5].

Фаги мають ряд унікальних властивостей, що робить їх перспективними агентами в боротьбі із патогенними та умовно-патогенними мікроорганізмами. Особливо це стосується антибіотикорезистентних штамів. Бактеріофаги убіквітарно поширені, регулярно потрапляють в організм людини через їжу, воду та навколишнє середовище без негативних наслідків. Фаги також є частиною нормальної мікробної популяції кишечнику людини [6]. З урахуванням цих фактів, до прикладу, Food and Drug Administration (FDA) було зроблено висновок про безпеку використання бактеріофагів стосовно *L. monocytogenes* як харчової добавки [7]. В умовах *in vitro* було показано високу ефективність бактеріофагів стосовно MDR (*Multiple drug-resistant*), XDR (*Extensively drug-resistant*) та PDR (*Pandrug-resistant*) штамів мікроорганізмів [8, 9]. Фаги можуть накопичуватися у вогнищі інфекції або навколишньому середовищі, поки там є бактерії-хазяїни, і навіть збільшувати своє навантаження в місці інфекційного процесу, тоді як концентрація антибіотика в організмі з часом знижується. Крім того, фаги здатні руйнувати екзополісахаридний матрикс біоплівки, який діє як бар'єр для захисту мікроорганізмів від протимікробних препаратів [10], таким чином ефективно діяти на біоплівкоутворювальних мікроорганізмів.

Але, незважаючи на те, що фаготерапія як метод лікування інфекційних хвороб/ускладнень використовується в окремих країнах вже більше ста років, все ще відчувається суттєва нестача мультицентрових рандомізованих плацебоконтрольованих клінічних випробувань, які могли б, відповідно до сучасних стандартів доказової медицини, підтвердити ефективність засто-

сування бактеріофагів у боротьбі з різними бактерійними інфекціями. Підвищення зацікавленості цією тематикою в останні роки обумовлене збільшенням темпів поширеності антибіотикорезистентності [11] та позитивними результатами багатьох опублікованих наукових досліджень щодо використання фагів з лікувальною метою.

Однією з негативних сторін використання фагів у медицині є те, що бактерії здатні розвивати резистентність і до фагів за різними механізмами, і тим самим зменшувати їх терапевтичний ефект [12]. Комбінація фаго- та антибіотикотерапії була запропонована як один із способів обійти негативні ефекти обох лікувальних підходів і підвищити ефективність боротьби з антибіотикорезистентними мікроорганізмами шляхом поєднання цих двох впливів на бактерії. Натепер з'являється все більше наукових публікацій, які показують ефективність комбінацій фаг-антибіотик, як в умовах *in vitro*, так і *in vivo*, порівняно з окремим використанням антибіотиків чи бактеріофагів [13]. Крім того, комбіноване застосування може дати такі можливі переваги, як посилене пригнічення бактерій, інтенсивніше проникнення антибактерійних засобів у біоплівку та зниження здатності бактерій розвивати резистентність до фагів та/або антибіотиків [14-16].

Взаємодія бактеріофагів з антибактерійними засобами, як і комбінація інших стресорів, може проявлятися у вигляді синергізму, антагонізму чи адитивного ефекту при спільному їх використанні. Хоча успіх лікування вірогідніший для синергідних ефектів, прості адитивні взаємодії, під час яких ефекти окремих антибактерійних засобів сумуються, також є важливим фактором для боротьби з патогенними мікроорганізмами в умовах *in vivo* [16]. Ефекти взаємодії між фагами та антибіотиками залежать від типу антибіотиків та власне бактеріофагів. Більшість механізмів, що лежать в основі певного типу взаємодії між антибіотиками та фагами на сьогодні залишаються невизначеними.

Одні з перших повідомлень про позитивний ефект комбінованого використання хіміотерапевтичних антимікробних препаратів і бактеріофагів в умовах *in vitro* датуються серединою 40-х років минулого століття. Було показано, що додавання сульфапіридину до суспензій фагів стафілококів і кишкової палички посилювало протибактерійний ефект і часто приводило до повного знищення всіх бактерій [17]. У 1945 р. F. Himmelweit довів, що фаг K у поєднанні з пеніциліном спричиняє швидше знищення та лізис штаму *Staphylococcus S3K*, ніж ці засоби поодиночі. В подальшому посилення швидкості репродукції стафілококових фагів при комбінованому їх застосуванні з пеніциліном неодноразово підтверджувалося [18].

Hagens S. et al. виявили значне підвищення чутливості штамів *Pseudomonas aeruginosa* до окремих антибіотиків в умовах *in vitro* після інфікування їх ниткоподібними фагами. Інфікування фагом Pf1 штаму *P. aeruginosa* K, що містив плазмідний ген стійкості до гентаміцину, привело до повернення чутливості мікроорганізму до цього антибіотика. Комбіноване використання фагів і низьких концентрацій гентаміцину запобігало загибелі мишей BALB/c під впливом *P. aeruginosa* K. У той же час окреме введення фагів або антибіотиків не перешкоджало загибелі тварин [19].

У 2007 р. було введено окреме поняття – фагово-антибіотиковий синергізм (PAS – *Phage Antibiotic Synergy*). Під терміном PAS розумілося те, що сублетальні концентрації певних антибіотиків можуть суттєво стимулювати продукцію деяких вірулентних фагів бактерійною клітиною-хазяїном [20]. Так, авторами було показано, що низька доза цефотаксиму та цефалоспирину збільшила продукцію фага wMFP уропатогенним штамом *Escherichia coli* більш ніж у 7 разів. Схожий ефект спостерігався при комбінованому використанні T4-подібних фагів з β -лактамами антибіотиками та хінолоновими хіміотерапевтичними засобами, а також мітоміцином C [20]. Це явище пояснювалося авторами як наслідок бактерійної клітинної філаментатії. Пізніше кількість публікацій, які присвячені вивченню синергічного ефекту при комбінованому використанні антибіотиків і бактеріофагів, різко зростає. Найчастіше фагово-антибіотиковий синергізм вивчався стосовно бактерій *Pseudomonas aeruginosa* [21, 22]. Значна кількість експериментальних досліджень присвячена також *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis* [23-26]. Було встановлено, що у присутності сублетальних доз антибіотиків, після активації SOS-відповіді, у бактерій запускаються шляхи стійкості до множинного стресу та відновлення ДНК. Одним із найбільш помітних ефектів в цьому випадку є пригнічення поділу бактерій. У результаті цього значна кількість клітин утворює ниткоподібні (філаментозні) форми, які не діляться. Індуковані антибіотиками ниткоподібні форми бактерій стають легкою мішенню для фагів через їх збільшену площу поверхні, що продемонстровано методами флуоресцентної мікроскопії та проточної цитометрії. Адсорбція, інфекція та подальший лізис фагами відбуваються частіше в ниткоподібних клітинах, порівняно з бактеріями звичайного розміру. Крім того, зменшення кількості бактерій, зумовлене порушенням поділу клітин, може бути причиною швидшої елімінації бактерій під час PAS [27].

Один із ефектів, який був виявлений при дослідженні взаємодії фагів з антибіотиками – збільшення розмірів

фагових бляшок в агарових середовищах під дією протимікробних препаратів. Додавання лінезоліду та тетрацикліну до живильного середовища призводило до триразового збільшення діаметра бактеріофагових бляшок на культурі бактерій MRSA. Крім того, попередня обробка цими антибіотиками бактерійної культури привела до значного скорочення часу адсорбції та латентного періоду у стафілококового фага [28]. Це явище можна використовувати як з лікувальною метою, так із метою виділення бактеріофагів з об'єктів зовнішнього середовища, оскільки значна частка стафілококових фагів утворює в живильному агаровому середовищі дрібні, ледь помітні бляшки. Дієвість комбінації лінезолід-бактеріофаг стосовно мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* також була підтверджена в умовах *in vivo* на моделі експериментальної діабетичної стопи у миші. Одноразове введення фага продемонструвало ефективність, подібну до лінезоліду, у лікуванні інфекції задньої лапи у тварин з діабетом. Однак комбінована терапія з використанням обох агентів була набагато ефективнішою для припинення інфекційного процесу (бактерійне навантаження, оцінка ураження, активність мієлопероксидази в ураженій тканині стопи та гістопатологічний аналіз) [29]. В іншому дослідженні використання імплантатів із подвійним покриттям, що складалося з літичного фага в комбінації з лінезолідом, виявилось ефективним та раннім підходом для запобігання, а також лікування імплантасоційованих інфекцій, що спричинені метицилінрезистентними штамми *S. aureus*. Оцінка здійснена на мишачій моделі експериментальної інфекції суглобів [30].

Фагово-антибіотиковий синергізм був описаний як стосовно клінічно-значущих мікроорганізмів, так і бактерій, які рідко спричиняють інфекційну патологію у людини. Так, наприклад, було встановлено взаємодію фагів *Burkholderia cepacia complex* (штами *Burkholderia cenocepacia* C6433 і K56-2 є збудниками хронічної легеневої інфекції у пацієнтів з муковісцидозом із широкою природною резистентністю) з 6 антибіотиками, що належать до 4 різних класів препаратів. Експериментально підтверджено, що максимальні синергічні ефекти спостерігалися для меропенему, ципрофлоксацину та тетрацикліну. Використання електронної мікроскопії підтвердило феномени філаментатії та кластеризації мікроорганізмів під дією сублетальних доз цих антибіотиків. При філаментатії фаги можуть мати розширений доступ до фагових рецепторів на подовжених або ниткоподібних клітинах, що приводить до збільшення продукції фагів і прискореного лізису. Кластеризація під дією тетрацикліну можливо забезпечує посилене фагове інфікування завдяки здатності бактеріофагів пересуватися латерально через прилеглі клітинні поверхні, і та-

ким чином посилюється контакт із фаговими рецепторами на різних клітинах [31].

Відомо, що бактерії, які знаходяться в біоплівках фізіологічно та метаболічно відрізняються від планктонних форм, завдяки чому біоплівки виявляють підвищену стійкість до дії протимікробних засобів. Більшість антибіотиків ефективні до планктонних культур у набагато менших концентраціях, порівняно з тими, які необхідні для пригнічення клітин, що є у біоплівках. Вирішальним фактором в ефективності лікування антибіотиками є вік біоплівки. При формуванні дозрілих біоплівок антибіотики можуть взагалі втрачати свою ефективність [32]. Натомість літичні бактеріофаги еволюціонували таким чином, щоб ефективно інфікувати та знищувати клітини, які пов'язані саме з біоплівкою.

Комбіноване використання окремих бактеріофагів з антибіотиками показало свою ефективність в умовах експерименту стосовно як ранніх, так і дозрілих біоплівок [27]. Згідно з повідомленнями Vivek Verma et al., зменшення кількості бактерій *Klebsiella pneumoniae* у старих біоплівках спостерігалось після застосування двох протимікробних агентів у комбінації (ципрофлоксацину та бактеріофага КРО1К2), оскільки сам ципрофлоксацин не міг значно зменшити бактерійну біомасу у старих біоплівках. Використання конфокальної мікроскопії показало індукцію структурних змін у матриці біоплівки та зменшення розміру мікроколоній після обробки бактеріофагом [15].

Є різні підходи до комбінованого використання антибіотиків і фагів, включаючи використання бактеріофагів для посилення активності антибіотиків і, навпаки, застосування антибіотиків для запобігання розвитку резистентності до фагів. Ці підходи можуть бути реалізовані шляхом послідовного (поетапний вплив фага з подальшим застосуванням антибіотиків і поступовий вплив антибіотиків з наступним використанням фага) або одночасного введення фага та антибіотиків. Dilini Kumaran et al. було показано, що значне зниження концентрації життєздатних мікроорганізмів спостерігалось, коли обробка біоплівки фагами передувала використанню антибіотиків. Цей ефект був найзначнішим з ванкомицином і цефазоліном, які продемонстрували синергічну взаємодію з бактеріофагом SATA-8505, особливо при невеликих концентраціях антибіотиків [33].

Відзначимо, що є також повідомлення про затримку росту бактеріофагів під дією окремих антибіотиків на бактерійну клітину. Так, було показано, що антибіотик ругулозин (продуцент *Myrotheelium verucaria*) не впливає на позаклітинний фаг MS₂ або бактерію-хазяїна, але пригнічує розмноження цього фага в клітині, і ступінь пригнічення напряму залежав від множинності інфекції [34].

Одна з груп антибіотиків, яка часто використовується в медицині, є аміноглікозидні протимікробні засоби. Це група препаратів, що добре відомі своєю бактерицидною дією за рахунок інгібіції синтезу білка. Бактеріофаги використовують бактерійні рибосоми клітини-хазяїна для синтезу власних як структурних, так і функціональних білків, і таким чином аміноглікозидні антибіотики можуть впливати на репродукцію фагів. Так, Larissa Kever et al. показали, що аміноглікозиди є потужними інгібіторами фагової інфекції у різноманітних бактерійних хазяїнах. Було продемонстровано, що аміноглікозиди блокують ранній етап життєвого циклу вірусу, ще до реплікації генома. Пригнічення фагів також було досягнуто з використанням супернатантів природних продуцентів аміноглікозидів (*Streptomyces venezuelae*), що вказує на широке фізіологічне значення протівірусних властивостей аміноглікозидів [35].

З другого боку Ergun Akturk et al. перевіряли дію гентаміцину як коад'юванта фагів у моделі рани з біоплівкою, що сформована на штучній дермі за рахунок *P. aeruginosa* та *S. aureus*. Здатність знищувати біоплівки випробуваних методів лікування була значно збільшена, коли фаги EPA1 та SAFA комбінували з гентаміцином і застосовували кілька разів у вигляді багаторазової дози (три дози, кожні 8 год). Отримані результати засвідчили, що гентаміцин є ефективним ад'ювантом фаготерапії, особливо при одночасному застосуванні з фагами та у трьох послідовних дозах [36].

Meier D. et al. встановили, що РНК-бактеріофаг f2, який був попередньо оброблений *in vitro* рифампіцином, різко втрачав свою інфекційність. Інгібіція інфекційності фагової РНК відбувається в 10-100 разів нижчих дозах рифампіцину, ніж пригнічення інфекційності інтактних фагових частинок [37]. Це ж підтвердилось в подальших дослідженнях впливу рифампіцину на репродукцію бактеріофага λ. Було показано, що антибіотик помітно пригнічує ріст λ-фага на *Escherichia coli* дикого типу. Синтез як ранньої, так і пізньої інформаційної РНК λ-фага пригнічувався рифампіцином, навіть якщо препарат додавали після того, як синтез інформаційної РНК фага вже розпочався [38].

Іншими науковцями було отримано експериментальні дані, що комбіноване використання ДНК-вмісного стафілококового фага SAP-26 з рифампіцином демонструє значний антибіоплівковий ефект, який проявляється у вигляді структурних змін у матриці біоплівки та значним зменшенням кількості бактерій [39]. На основі цього можна зробити висновок, що взаємодія бактеріофагів з окремими антибіотиками є індивідуальною і для підбору оптимальної комбінації фаг-антибіотик з метою лікування інфекцій, що спричинені антибіотикорезис-

тентними мікроорганізмами, необхідне тестування їх взаємодії в лабораторних умовах.

Однією з багатообіцяючих стратегій боротьби з антибіотикорезистентними штамми мікроорганізмів є використання антибіотиків разом бактеріофагами, що містять *acr*-гени (так звані *Acr*-фаги). *Acr* білки (Anti-CRISPR proteins) виробляються на ранніх стадіях фагової інфекції та пригнічують бактерійний механізм захисту CRISPR-Cas, що забезпечує в подальшому реплікацію бактеріофагів. Білки *Acr* не є структурними елементами фагового віріону, а тому гени *acr* повинні бути експресовані на самому початку фагового інфекційного процесу, що дозволяє їм успішно пригнічувати «імунітет» CRISPR-Cas до того, як фаг буде знищено [40].

Експериментально підтверджено, що деякі антибіотики, які інгібують трансляцію білків (наприклад, хлорамфенікол, еритроміцин, тетрациклін), здатні порушувати синтез *Acr* білків, і таким чином перешкоджають ефективності *Acr*-фагів, які інфікують CRISPR-імунні бактерії. Додавання цих антибіотиків до суспензії бактерій значно знижувало титр *Acr*-фагів [40], що є проявом фагово-антибіотикового антагонізму.

Tatiana Dimitriu et al. також встановили, що використання бактеріостатичних антибіотиків може уповільнювати розвиток фагів, забезпечуючи таким чином більший проміжок часу для запуску «імунної системи» CRISPR-Cas і отримання спейсерів від фага, що в кінцевому результаті перешкоджає загибелі бактерійної клітини і внутрішньоклітинній інактивації бактеріофагів. Бактеріостатичні антибіотики можуть сприяти набуттю «імунітету» CRISPR до фагів у широкому діапазоні концентрацій, впливаючи на динаміку розвитку фагів. Було безпосередньо показано, що навіть концентрація в 0,05 МІК хлорамфеніколу сприяла розвитку «імунітету» CRISPR, незважаючи на мінімальний вплив на експоненціальну швидкість росту [41].

Перед використанням комбінації бактеріофагів з антибіотиками для лікування інфекційних процесів важливо визначити чутливість бактерій в умовах *in vitro* як до фагів, так і до антибіотиків, а також до їх комбінації, оскільки навіть антибіотики зі схожими механізмами дії

можуть призвести до різних результатів у поєднанні з конкретними фагами [42]. В літературних джерелах наведено опис різних експериментальних моделей для визначення синергійного ефекту різних типів фагів і антибіотиків. Ці моделі включають оцінку бляшкоутворення фагами в агарових середовищах, загибель бактерій в рідких живильних середовищах, включаючи антибіотико- або фагорезистентні штамми, зменшення кількості бактерій, які входять до складу біоплівки, та результати взаємодії в умовах *in vivo* [43]. Оцінку бляшкоутворення можна реалізувати двома підходами – з додаванням антибіотиків у формі дисків, що розміщені поверх м'якого агару (верхній шар) та додавання безпосередньо антибіотика до живильного середовища. З використанням цефотаксиму та бактерій *E. coli* було показано, що більшу кількість бляшок (як прояв PAS) можна одержати при додаванні антибіотика до нижнього шару агару за наявності додаткового верхнього шару агаризованого середовища, що містить суспензію бактерій і фагів. Ця модифікація збільшила кількість бляшок на 114 % порівняно з використанням лише одного шару агару та на 37 % відносно стандартного методу агарових шарів за Грація, що містить нижній і верхній агар [44].

Висновки

Дослідження в умовах *in vitro* та *in vivo* свідчать, що комбіноване лікування бактеріофагами та антибіотиками має значні перспективи клінічного використання. Особливо це стосується інфекцій, які спричинені антибіотикорезистентними мікроорганізмами. Швидша елімінація збудників з вогнища інфекції та зниження ймовірності розвитку стійкості як до фагів так і до антибіотиків є основними перевагами поєднаної терапії. Важливі подальші дослідження для встановлення умов найкращої синергії фагів та антибіотиків у практичній медицині. У будь-якому випадку вибір типу фага та антибіотика, а також їх співвідношення при застосуванні слід ретельно обґрунтовувати, спираючись на дані лабораторних досліджень. Залишається відкритим питання стандартизації лабораторних методик визначення синергізму, антагонізму чи адитивного ефекту при взаємодії фагів з антибіотиками.

Література

1. Sait World Health Organization. Retrieved from <https://www.who.int/news/item/22-06-2022-lack-of-innovation-set-to-undermine-antibiotic-performance-and-health-gains>.
2. Murray, C. J., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Aguilar, G. R., Gray, A., et al. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: A systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629-655.

3. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2023-2021 data (2023). Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control and World Health Organization.
4. Kuzin, I., Matskov, O., Bondar, R., Lapin, R., Vovk, T., Howard, A., et al. (2023). Notes from the Field: Responding to the Wartime Spread of Antimicrobial-Resistant Organisms — Ukraine, 2022. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 72, 1333-1334.

5. Chanishvili, N. (2012). Phage therapy – history from twort and d'Herelle through Soviet experience to current approaches. *Advances in Virus Research*, 83, 3-40.
6. Waller, A. S., Yamada, T., Kristensen, D. M., Kultima, J. R., Sunagawa, S., Koonin, E. V., et al. (2014). Classification and quantification of bacteriophage taxa in human gut metagenomes. *The ISME Journal*, 8(7), 1391-1402.
7. US Food and Drug Administration (2006). Food additives permitted for direct addition to food for human consumption; bacteriophage preparation. US Food and Drug Administration, Silver Spring, MD.
8. Chung, K. M., Nang, S. C., & Tang, S. S. (2023). The safety of bacteriophages in treatment of diseases caused by multidrug-resistant bacteria. *Pharmaceuticals*, 16(10), 1347.
9. Kaur, G., Agarwal, R. & Sharma, R. K. (2021). Bacteriophage therapy for critical and high-priority antibiotic-resistant bacteria and phage cocktail-antibiotic formulation perspective. *Food and Environmental Virology*, 13(4), 433-446.
10. Zurabov, F., Glazunov, E., Kochetova, T., Uskevich, V., & Popova, V. (2023). Bacteriophages with depolymerase activity in the control of antibiotic resistant *Klebsiella pneumoniae* biofilms. *Scientific Reports*, 13, 15188.
11. Maimaiti, Z., Li, Z., Xu, C., Chen, J., Chai, W. (2023). Global trends and hotspots of phage therapy for bacterial infection: A bibliometric visualized analysis from 2001 to 2021. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1067803.
12. Arias, C. F., Acosta, F. J., Bertocchini, F., Herrero, M. A., & Fernández-Arias, C. (2022). The coordination of anti-phage immunity mechanisms in bacterial cells. *Nature Communications*, 13(1), 7412.
13. Himmelweit, F. (1945). Combined Action of Penicillin and Bacteriophage on Staphylococci. *The Lancet*, 246(6361), 104-105.
14. Bulssico, J., Papukashvili, I., Espinosa, L., Gandon, S., & Ansaldo, M. (2023). Phage-antibiotic synergy: Cell filamentation is a key driver of successful phage predation. *PLOS Pathogens*, 19(9), e1011602.
15. Chhibber, S., Kaur, T. & Kaur, S. (2013). Co-therapy using lytic bacteriophage and linezolid: Effective treatment in eliminating methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from diabetic foot infections. *PLoS ONE*, 8(2), e56022.
16. Torres-Barceló, C., & Hochberg, M. E. (2016). Evolutionary Rationale for Phages as Complements of Antibiotics. *Trends in Microbiology*, 24(4), 249-256.
17. Zaytzeff-Jern, H., Meloney, F. L. (1941). Studies on phage VI. the effect of sulfapyridine and sulfanilamides on staphylococci and *B. coli* and their respective phages. *J. Lab. Clin. Med.*, 26, 1756-1767.
18. Krueger, A. P., Cohn, T., Noble, N. (1947). Effect of Penicillin on the Reaction Between Phage and Staphylococci. *Experimental Biology and Medicine*, 66(1), 204-205.
19. Hagens, S., Habel, A., & Bläsi, U. (2006). Augmentation of the Antimicrobial Efficacy of Antibiotics by Filamentous Phage. *Microbial Drug Resistance*, 12(3), 164-168.
20. Comeau, A. M., Tétart, F., Trojet, S. N., Prère, M.-F., & Krisch, H. M. (2007). Phage-Antibiotic Synergy (PAS): β -Lactam and Quinolone Antibiotics Stimulate Virulent Phage Growth. *PLoS ONE*, 2(8), e799.
21. De Soir, S., Parée, H., Kamarudin, N. H. N., Wagemans, J., Lavigne, R., Braem, A., et al. (2024). Exploiting phage-antibiotic synergies to disrupt *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 biofilms in the context of orthopedic infections. *Microbiology Spectrum*, 12(1), e03219-23.
22. Liu, Y., Zhao, Y., Qian, C., Huang, Z., Feng, L., Chen, L. et al. (2023). Study of Combined Effect of Bacteriophage vB3530 and Chlorhexidine on the Inactivation of *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Microbiology*, 23(1), 256.
23. Abdraimova, N., Shitikov, E., Gorodnichev, R., & Kornienko, M. (2023). Combination of bacteriophages and antibiotics as the most effective therapy against *Staphylococcus aureus*. *Medicine of Extreme Situations*, 25(2023(4)), 37-44.
24. Necel, A., Bloch, S., Topka-Bielecka, G., Janiszewska, A., Łukasiak, A., Nejman-Faleńczyk, B. et al. (2022). Synergistic Effects of Bacteriophage vB_Eco4-M7 and Selected Antibiotics on the Biofilm Formed by Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*. *Antibiotics*, 11(6), 712.
25. Gordillo Altamirano, F. L., Kostoulas, X., Subedi, D., Korneev, D., Peleg, A. Y., & Barr, J. J. (2022). Phage-antibiotic combination is a superior treatment against *Acinetobacter baumannii* in a preclinical study. *EBioMedicine*, 80, 104045.
26. Eskenazi, A., Lood, C., Wubbolts, J., Hites, M., Balarjshvili, N., Leshkasheli, L., et al. (2022). Combination of pre-adapted bacteriophage therapy and antibiotics for treatment of fracture-related infection due to pandrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Nature Communications*, 13(1), 302.
27. Bulssico, J., Papukashvili, I., Espinosa, L., Gandon, S., & Ansaldo, M. (2023). Phage-antibiotic synergy: Cell filamentation is a key driver of successful phage predation. *PLOS Pathogens*, 19(9), e1011602.
28. Chhibber, S., Kaur, T. & Kaur, S. (2013). Co-therapy using lytic bacteriophage and linezolid: Effective treatment in eliminating methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from diabetic foot infections. *PLoS ONE*, 8(2), e56022.
29. Kaur, S., Harjai, K., & Chhibber, S. (2016). In Vivo Assessment of Phage and Linezolid Based Implant Coatings for Treatment of Methicillin Resistant *S. aureus* (MRSA) Mediated Orthopaedic Device Related Infections. *PLOS ONE*, 11(6), e0157626.
30. Kamal, F., & Dennis, J. J. (2015). Burkholderia cepacia Complex Phage-Antibiotic Synergy (PAS): Antibiotics Stimulate Lytic Phage Activity. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(3), 1132-1138.
31. Li, Y., Xiao, P., Wang, Y., Hao, Y. (2020). Mechanisms and Control Measures of Mature Biofilm Resistance to Antimicrobial Agents in the Clinical Context. *ACS Omega*, 5(36), 22684-22690.
32. Kumaran, D., Taha, M., Yi, Q., Ramirez-Arcos, S., Diallo, J., Carli, A. et al. (2018). Does Treatment Order Matter? Investigating the Ability of Bacteriophage to Augment Antibiotic Activity against *Staphylococcus aureus* Biofilms. *Frontiers in Microbiology*, 9(127), 1-11.
33. Nakamura, S., Nii, F., Shimizu, M., & Watanabe, I. (1971). Inhibition of Phage Growth by an Antibiotic Rugulosin Isolated from *Myrothecium verucaria*. *Japanese Journal of Microbiology*, 15(2), 113-120.
34. Kever, L., Hardy, A., Luthe, T., Hünnefeld, M., Gätgens, C., Milke, L. et al. (2022). Aminoglycoside antibiotics inhibit phage infection by blocking an early step of the infection cycle. *mBio*, 13(3), e00783-22.
35. Akturk, E., Melo, L. D. R., Oliveira, H., Crabbé, A., Coenye, T., & Azeredo, J. (2023). Combining phages and antibiotic to enhance antibiofilm efficacy against an in vitro dual species wound biofilm. *Biofilm*, 6, 100147.
36. Meier, D., & Hofschneider, P. H. (1972). Effect of rifampicin on the growth of RNA bacteriophage M12. *FEBS Letters*, 25(1), 179-183.
37. Geiduschek, E., Sklar, J. (1969). Role of Host RNA Polymerase in Phage Development: Continual Requirement for a Host RNA Polymerase Component in a Bacteriophage Development. *Nature*, 221, 833-836.
38. Rahman, M., Kim, S., Kim, S. M., Seol, S. Y., & Kim, J. (2011). Characterization of induced *Staphylococcus aureus* bacteriophage

SAP-26 and its anti-biofilm activity with rifampicin. *Biofouling*, 27(10), 1087-1093.

39. Pons, B. J., van Houte, S., Westra, E. R., Chevallereau, A. (2023). Ecology and evolution of phages encoding anti-CRISPR proteins. *Journal of Molecular Biology*, 435(7), 167974.

40. Dimitriu, T., Kurilovich, E., Łapińska, U., Severinov, K., Pagliara, S., Szczelkun, M. D., et al. (2022). Bacteriostatic antibiotics promote CRISPR-cas adaptive immunity by enabling increased spacer acquisition. *Cell Host Microbe*, 30(1), 31-40.

41. Segall, A. M., Roach, D. R., & Strathdee, S. A. (2019). Stronger together? Perspectives on phage-antibiotic synergy in clinical

applications of phage therapy. *Current Opinion in Microbiology*, 51, 46-50.

42. Gordillo Altamirano, F. L., Kostoulias, X., Subedi, D., Korneev, D., Peleg, A. Y., & Barr, J. J. (2022). Phage-antibiotic combination is a superior treatment against *Acinetobacter baumannii* in a preclinical study. *EBioMedicine*, 80, 104045.

43. Stachurska, X., Roszak, M., Jabłońska, J., Mizielińska, M., & Nawrotek, P. (2021). Double-Layer Agar (DLA) Modifications for the First Step of the Phage-Antibiotic Synergy (PAS) Identification. *Antibiotics*, 10(11), 1306.

COMBINATION OF ANTIBIOTICS AND BACTERIOPHAGES TO COMBAT ANTIBIOTIC-RESISTANT MICROORGANISMS

V. P. Shyrobokov, V. A. Poniatovskyi

O. O. Bogomolets National Medical University

SUMMARY. *Despite antibiotics being the main method of combating bacterial infections today, the rapid emergence and prevalence of antibiotic resistance generate interest in alternative and supplementary antimicrobial strategies, particularly concerning infections caused by MDR, PDR, and XDR microorganisms. In recent decades, research has been conducted on the use of bacteriophages (phages) and antibiotics either separately or in combination, both in vitro and in vivo. The materials presented in the review indicate the synergistic action of phages and antibiotics when used in combination, although some experiments have shown indifferent effects and even antagonism between phages and antibiotics. Strategies involving the combination of phages and antibiotics are promising, especially concerning biofilms, including their mature forms.*

Key words: bacteriophages; phage-antibiotic synergy.

Відомості про авторів:

Широбоків Володимир Павлович – академік НАН та НАМН України, професор, д. мед. наук, заслужений діяч науки і техніки, завідувач кафедри мікробіології та паразитології з основами імунології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця; e-mail: v.p.shyrobokov@gmail.com

ORCID: 0000-0003-0882-148X

Понятовський Вадим Анатолійович – канд. мед. наук, докторант кафедри мікробіології та паразитології з основами імунології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця; e-mail: v.poniatovskyi@gmail.com

ORCID: 0000-0002-1503-3935

Information about the authors:

Shyrobokov V. P. – Academician of the NAS and NAMS of Ukraine, Professor, MD, Honored Scientist and Technician, Head of the Department of Microbiology and Parasitology with Basics of Immunology at Bogomolets National Medical University; e-mail: v.p.shyrobokov@gmail.com

ORCID: 0000-0003-0882-148X

Poniatovskyi V. A. – PhD, Doctoral Candidate at the Department of Microbiology and Parasitology with Basics of Immunology at Bogomolets National Medical University; e-mail: v.poniatovskyi@gmail.com

ORCID: 0000-0002-1503-3935

Конфлікту інтересів немає.

Authors have no conflict of interest to declare.

Отримано 20.05.2024 р.