

УДК 615.371:578.7

Є.С. Воробей, О.С. Воронкова, І.В. Маліновська, А.І. Вінніков

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара,  
пр-т Гагаріна, 72, Дніпропетровськ, Україна, тел.: +38(056) 374 97 34,  
e-mail: elizaveta.vorobey@mail.ru

## БАКТЕРІОФАГИ ТА ЇХ ВПЛИВ НА БАКТЕРІАЛЬНІ БІОПЛІВКИ

*Огляд присвячено питанням взаємодії бактеріофагів і бактеріальних клітин у біоплівці та можливостям регулювання росту біоплівки за участі бактеріофагів. Необхідність вирішення даної проблеми виникає через значне поширення стійкості клінічних ізолятів бактерій до антибіотиків, що визначає зниження ефективності антибіотичної терапії в цілому. У сучасній клінічній практиці виявлено зростання кількості захворювань, зумовлених розвитком біоплівки, у складі якої бактерії отримують додаткові переваги, у тому числі і підвищення резистентності до дії антибіотиків. Показано особливості фагової інфекції по відношенню до вільних клітин бактерій та до клітин у складі мікроколоній у біоплівці. Представлені дані розкривають можливості бактеріофагів у боротьбі з бактеріальними біоплівками, що складаються з умовно-патогенних бактерій. Наведено дані про механізм взаємодії фагів з клітинами бактерій у біоплівці та можливості руйнування фаговими ферментами міжклітинного матриксу.*

*Ключові слова: бактеріофаги, мікробні біоплівки, регуляція росту біоплівки, біологічні властивості бактерій.*

В останній час відмічається підвищення інтересу до дослідження вірусів бактерій — бактеріофагів та їх використання як допоміжних засобів для лікування інфекційних захворювань. У ряді досліджень [8, 12, 18, 24] встановлено, що за розвитку інфекції відбувається утворення біоплівок, до складу яких входять умовно-патогенні та патогенні бактерії, і утворення таких угруповань призводить до посилення прояву їх факторів патогенності. У зв'язку із поширенням антибіотико-резистентності патогенних мікроорганізмів, різким зниженням темпів розробки та комерціалізації нових антибактеріальних препаратів та відкриттям ролі

© Є.С. Воробей, О.С. Воронкова, І.В. Маліновська, А.І. Вінніков, 2013



біоплівок, які містять стійкі до класичних антибіотиків бактерії, у розвитку хронічних інфекцій в останні 20 років інтерес до фаготерапії різко зріс, як у вітчизняній, так і в західній медицині [29, 31]. Антибактеріальний ефект препаратів вірулентних бактеріофагів зумовлений проникненням фага у бактеріальну клітину з подальшим його розмноженням і лізисом інфікованої клітини. Бактеріофаги, які виходять у зовнішнє середовище в процесі лізису, у свою чергу інфікують і лізують інші бактеріальні клітини, діючи до повного знищення патогенних бактерій у вогнищі запалення [13].

У межах даного напрямку досліджень проводиться виділення вірулентних бактеріофагів та вивчення їх біологічних властивостей з метою вибору вірусів ефективних проти плівкоутворювальних штамів патогенних бактерій.

Метою роботи було проаналізувати інформацію про взаємодію бактеріофагів з бактеріями, що утворюють біоплівки.

### **Біологічні властивості бактерій у складі біоплівки**

Сучасними дослідженнями показано, що більшість бактерій існують у природних екосистемах не у вигляді вільноплаваючих (планктонних) клітин, а у вигляді специфічно організованих і прикріплених до субстратів співтовариств — біоплівок, утворення яких є складнорегульованим біологічним процесом [11]. Як приклад плівкоутворювальних бактерій можна навести *S. epidermidis*, який входить до складу нормальної мікробіоти тіла людини, але при цьому здатен викликати важкі ураження всіх органів та систем.

Мікроорганізми утворюють біоплівки на будь-яких біотичних та абіотичних поверхнях, що створює великі проблеми у різних сферах господарської діяльності, в тому числі і у медичній практиці. Як тепер встановлено, біоплівки є одним з патогенетичних чинників формування хронічних інфекційних процесів [19].

Протягом довгого часу вважалося, що мікробні біоплівки утворюються тільки на поверхні виробів медичного призначення, таких як сечові катетери, ендотрахеальні трубки, ортопедичні і грудні імплантати, контактні лінзи, внутрішньоматкові пристосування та хірургічні нитки. Але біоплівки є основними джерелами захворювань, які характеризуються важкими бактеріальними інфекціями і хронічним запаленням, наприклад захворювання періодонта, фібрози сечового міхура, хронічні акне і остеомієліти. Біоплівки також утворюються в ранах, що уповільнює процес загоєння. Так, електронна мікроскопія біоптатів з хронічних ран показала, що 60% зразків містили біоплівки, на відміну від 6% зразків біоптатів зі свіжих ран [4, 18, 19, 35].

На сьогоднішній день роль бактеріальних біоплівок в інфекційній патології, ймовірно, до кінця ще не оцінена, однак висловлюється при-

пущення, що до 80% всіх інфекційних хвороб пов'язано з утворенням біоплівок [18].

Відкриття бактеріальних біоплівок, що утворюються практично за будь-якого інфекційного процесу, виявило невідомі раніше чинники недостатньої ефективності використання антибіотиків.

Дослідження останніх років свідчать, що дія антибіотиків на бактерії в співтовариствах залежить не тільки від властивостей мікроба і антибіотика, але й від будови і складу біоплівок. У біоплівках бактерії виживають в присутності антибіотиків, доданих у кількості набагато більшій, ніж їх мінімальна пригнічувальна концентрація. Встановлено, що в основі підвищеного виживання лежать властивості клітин і позаклітинного матриксу [19].

На сьогодні встановлено низку чинників, відповідальних за такий важливий для клінічного застосування феномен, як резистентність біоплівок до антибіотиків. До них, зокрема, належать: інактивація антибіотиків позаклітинними полімерами чи ферментами; сповільнення метаболізму і, відповідно, зменшення швидкості росту мікроорганізмів в умовах лімітування поживних речовин у біоплівці, через що антибактеріальний препарат дифундує з біоплівки швидше, ніж встигає на неї подіяти; експресія можливих генів резистентності до антибіотиків; поява в біоплівці під дією антибіотиків мікроорганізмів-персистерів [20].

Показано, що для підвищення ефективності дії антибіотиків можна впливати не тільки на самі бактерії, але і на компоненти матриксу — білки, ліпіди і нуклеїнові кислоти, наприклад, використовуючи ферменти: протеази, ліпази, нуклеази. Раніше проведені дослідження показали низку невідомих ефектів ферментів: здатність змінювати морфологію та властивості мікробних біоплівок, зменшувати кількість матриксу і оптичну густину колоній, а також посилювати гальмівну дію антибактеріальних препаратів [21, 24].

У складі біоплівки знижується доступ антибіотиків до бактеріальних клітин: частина їх зв'язується у матриксі, а частина — взаємодіє з крайніми клітинами мікроколонії, забезпечуючи виживання внутрішніх її членів. Отже, існування мікроорганізмів у спільноті екологічно вигідніше, ніж існування у формі окремих клітин. Екологічні переваги існування мікроорганізмів у біоплівках полягають у прискоренні доступу до органічних речовин через метаболічну кооперацію клітин; у захисті від негативного впливу багатьох екологічних загроз, включаючи біоциди, антибіотики, антитіла, поверхнево-активні речовини, бактеріофаги, фагоцити, ультрафіолетове опромінення, зміна рН, висушування [11]; у набутті резистентності до бактерицидних агентів. Так, концентрація антибіотиків для впливу на бактерії біоплівки в окремих випадках може бути за різними даними у 10–100 [35] та навіть 500–1000 [19] разів вища,



ніж для планктонних форм цих бактерій. Отже, стандартне лікування антибіотиками знищує планктонні клітини, але меншою мірою впливає на бактерії у біоплівці. Тому після закінчення лікування можливий рецидив патологічного процесу [35].

Сьогодні можна зробити припущення, що для більшості бактерій стан біоплівки, прикріпленої до поверхні, є базовим, виробленим протягом мільйонів років під впливом природного відбору в умовах, які постійно змінювалися. Звідси випливає, що ефективність будь-яких антимікробних препаратів (лікувальних, дезінфікувальних, мийно-дезінфікувальних) необхідно визначати за їх дією на мікроорганізми у біоплівці та вважати ефективними не мінімальні концентрації, що пригнічують ріст планктонних культур, а ті, що діють на мікроорганізми у складі біоплівок [18].

### **Перспективи та можливості застосування фагових препаратів для лікування уражень, викликаних плівкоутворювальними штамми**

Поширення антибіотикостійкості бактерій, а також відкриття ролі біоплівок, стійких до класичних антибіотиків, у розвитку хронічних інфекцій відродили інтерес до терапії бактеріофагами [10]. Використання препаратів бактеріофагів стимулює активізацію факторів специфічного і неспецифічного імунітету [2, 40]. Тому препарати бактеріофагів застосовуються не тільки для лікування і профілактики інфекційних захворювань, але і використовуються також для контролю стану імунної системи у пацієнтів з імунодефіцитами [22]. Так, наприкінці 2009 р. у Стокгольмі відбулася конференція «Інноваційні завдання в області ефективності антибактеріальних препаратів». У межах цього заходу фахівцями було повідомлено, що в країнах ЄС від інфекцій, спричинених бактеріями, які мають множинну стійкість до антибіотиків, помирає більше 25 000 пацієнтів на рік. Розробка нових антибіотичних препаратів, їх клінічні випробування та реєстрація займають багато років і обходяться у надмірно великі суми. Застосування антибіотиків у клінічній практиці, крім загальновідомих побічних ефектів, призводить до виникнення форм бактерій, стійких до нових синтезованих препаратів. У листопаді 2009 р. в Москві у рамках круглого столу «Ера антибіотиків закінчується: альтернативні можливості антибактеріальної терапії» представником об'єднаної робочої групи Європейського центру з контролю і профілактики захворювань (European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC) і Європейського агентства з оцінки лікарських засобів (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, EMA) було особливо відзначено той факт, що в період з 70-х по 90-ті рр. минулого століття не відкрито жодного нового класу антибіотиків. Лише у 2000-х рр. з'явилися препарати класу циклічних ліпопептидів і оксазолідинонів. Як наслідок, кількість нових препаратів антибіотиків також неухильно скорочується

[13]. Так, у США за період з 1991 по 1995 рр. Управлінням з контролю за продуктами і ліками США (US Food and Drug Administration, FDA) було схвалено 26 препаратів, у той час як з 2000 по 2003 рр. — всього 3 [36]. Множинна резистентність до антибіотиків у бактерій зумовила необхідність пошуку та застосування альтернативних засобів лікування, серед яких використання фагів виявилось найефективнішим [38].

Звичайно, що антибіотикотерапія є і буде основним заходом для лікування бактеріальних уражень у людини та водночас є потреба у використанні ефективних допоміжних терапевтичних засобів, які не шкодитимуть людині та її мікробіоті і будуть високоспецифічними до патогенів.

Одним з напрямів пошуку перспективних препаратів для пригнічення мікроорганізмів є вивчення геномів мікроорганізмів і виявлення у їх складі послідовностей, відповідальних за стійкість до антибіотиків та будь-якого іншого зовнішнього впливу, а також можливостей регуляції функціонування цих генів з метою їх пригнічення. Проводиться це з метою вивчення молекулярних основ патогенності, що відкриє нові шляхи лікування інфекційних захворювань, але цей підхід занадто вартісний і потребує багато часу.

Альтернативою до антибіотиків і хімотерапевтичних препаратів є лікувальні бактеріофаги, на ефективність дії яких не мають впливу чутливість або резистентність бактерій до антибіотиків [7]. Цикли репродукції специфічних бактеріофагів з їх накопиченням в місці локалізації запального процесу є важливою особливістю фаготерапії, що відрізняє її від застосування суто хімотерапевтичних засобів, з широким антимікробним спектром, який часто порушує і склад нормальної мікробіоти організму хазяїна [34].

За сучасними нормами з метою фагової терапії використовуються тільки вірулентні бактеріофаги, тобто такі, розмноження яких відбувається шляхом літичного циклу. При цьому кожна інфікована клітина після певного проміжку часу, так званого латентного періоду, лізується, звільняючи 50–200, а іноді і більше часток бактеріофага. Таким чином концентрація фагових часток постійно збільшується, що призводить до повного знищення чутливого мікроорганізму. Однак в реальних системах процесу розмноження вірусу протистоять процеси руйнування вірусних часток та їх виведення з досліджуваної системи [13]. У разі фагової терапії найбільше значення в цьому сенсі мають поглинання фагів клітинами ретикуло-ендотеліальної системи, зниження їх кількості за рахунок зв'язування з еритроцитами, клітинами тканин або міжклітинним матриксом, руйнування в результаті адсорбції на мертвих клітинах або таких, що мають специфічні системи стійкості, а також виведення з організму із сечею або калом. Важливо також зазначити, що розмноження фагів у більшості випадків локалізовано у вогнищі інфекції,



тоді як розсіювання потомства фагів часто відбувається у масштабі всього організму. Якщо швидкість розмноження бактеріофагів *in situ* перевищує швидкість їх розсіювання та/або руйнування, то концентрація фагів буде рости до вичерпання доступних клітин хазяїна. У цьому випадку говорять про активну фагову терапію [23]. Ймовірно, саме такий сценарій реалізується при фаготерапії ряду кишкових інфекцій, у тому числі експериментальних. У цих випадках достатньо одного або декількох прийомів фага, щоб добитися одужання [14]. У випадку ж, коли для підтримки концентрації фагів, необхідної для пригнічення бактеріального росту, необхідно введення значних кількостей фага ззовні, як це буває при лікуванні більшості хронічних інфекцій, можна говорити про пасивну терапію [23].

За реальної фагової терапії більшість бактеріальних популяцій колонізують лише обмежені ніші в організмі, при цьому значна частина бактерій може перебувати у фізіологічних станах, несприятливих для розмноження фага, наприклад у складі біоплівок [33].

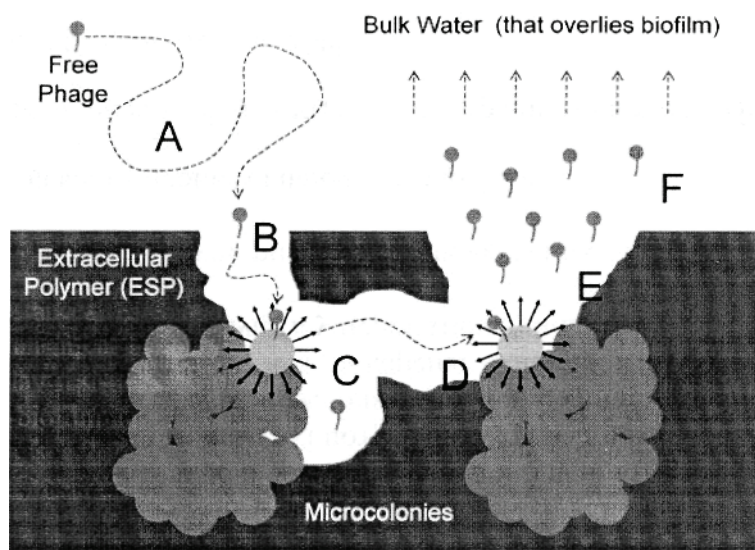
### **Взаємодія бактеріофагів із бактеріальними клітинами у складі біоплівок**

Бактерії, що колонізують організм, згруповані у високогідратований екзополіцукридно-муциновий матрикс. Спостережувані під мікроскопом бактерії у біоплівках розподілені нерівномірно. Вони утворюють мікроколонії, оточені обволікаючим міжклітинним матриксом, який є внутрішнім середовищем біоплівки з регульованим мікроелементним складом і сигнальними речовинами, що продукуються мікроорганізмами одного виду і регулюють розвиток плівки, а також здійснюють вплив на всіх симбіонтів плівки, незалежно від того, який характер цього впливу — позитивний чи негативний [15].

Зростає інтерес до природної ролі бактеріофагів в модуляції розвитку біоплівок і, особливо, до потенційної можливості використання бактеріофагів для контролю утворення біоплівок в різних умовах [5].

Взаємодія фага з біоплівкою може бути диференційована за категоріями. Наприклад, фаги, поряд з іншими вірусами можуть потрапляти у біоплівку і залишатися у неспецифічній позаклітинній полімерній речовині (EPS), не потрапляючи до клітин бактерій. Внаслідок розвитку фагової інфекції вірогідна деградація цих полімерів і перешкоджання подальшому формуванню біоплівки через масову загибель, а отже неможливість агрегації планктонних клітин [21]. На рис. 1 представлений сценарій взаємодії фага з біоплівкою, що призводить до літичної інфекції, тобто фаг виступає як деградуючий EPS деполімеризаційного фактора.

Біоплівки також можуть чинити опір фаговій інфекції [21].



**Рис. 1. Знищення біоплівки фагом.**

A – розповсюдження вільного фага вище поверхні біоплівки. B – зіткнення вільного фага з біоплівкою, що завершується поглинанням бактеріофага позаклітинною полімерною речовиною. C – проникнення бактеріофага у чутливу бактерію, що супроводжується розвитком інфекційного процесу та вивільненням фагового потомства. Наступна додаткова деполімеризація EPS зустрічається наряду з поширенням фагового потомства (початкові стадії останнього вказані як чорні стрілки). D – простежується шлях єдиного бактеріофага, який зтикається з бактерією, пов’язаною із сусідньою мікроколонією. Це супроводжується її інфекцією та розривом. E – розрив та вивільнення бактеріофагів до поверхні біоплівки. F – поширення вільного бактеріофага у рідину із подальшим поглинанням біоплівкою (за Stephen T. Abedon) [21]

**Fig. 1. Exploitation of a biofilm by a phage.**

(A) Free phage diffusion above the biofilm. (B) Free-phage encounter with biofilm EPS resulting in local EPS digestion. (C) Phage encounter with a susceptible bacterium that is followed by phage burst and phage progeny release. Subsequent additional EPS depolymerization occurs along with dissemination of released free phages (the initial stages of the latter is shown as black arrows). (D) The path of a single phage is traced, which encounters a bacterium associated with a nearby microcolony. This is followed by infection and burst. (E) Burst proceeds as previously indicated except that here the path of released phages toward the biofilm surface is indicated. (F) Free-phage dissemination into bulk water toward subsequent biofilm acquisition [21]

Протистояння біоплівкових бактерій фагам відбувається завдяки природним асоціаціям бактерій, які впродовж свого існування продукують не однотипові, а різноманітні асоціативні екзополімерні комплекси, які перешкоджають з’єднанню фагової деполімерази та проникненню фагів всередину біоплівкового матриксу [25, 39]. Однак геном бактеріофага містить гени, експресія яких приводить до синтезу специфічних ферментів фагової інфекції – поліцукридеполімерази, завдяки яким може руйнувати



захисний шар екзополімеру і діставатися поверхні бактерій. Показано [21], що відбувається руйнація полімеру, протягом якої взаємодія деполімерази фага з клітиною за рахунок гліканази призводить до поєднання бактеріофага з первинним рецептором клітини. Процес призводить до ураження клітин біоплівки та їх загибелі.

Важливо, що фагова інфекція викликає порушення структури біоплівки, роблячи клітини, які залишилися там, доступними для імунної системи. Бактеріофаги, вочевидь, здатні інфікувати і клітини-персистери, які багато в чому зумовлюють невдачі антибактеріальної хіміотерапії такого роду інфекцій [30]. Просторова неоднорідність структури біоплівок, а також багатьох мікросередовищ у організмі людини і тварин може призводити до того, що хвилеподібне поширення фагової інфекції у популяції бактерій поволі затихає [14].

Передбачається, що деякі фаги можуть нести «вторинні» білки адгезії, не пов'язані безпосередньо з апаратом, що забезпечує проникнення ДНК всередину клітини. Багато таких можливих вторинних адгезинів несуть імуноглобулін-подібні домени, експоновані на поверхні головок, на скорочуваних чохлах хвостового відростка або на кінці комірцевих ниток фагів [26]. Деякі фаги можуть нести на комірцевих нитках домени, схожі з адгезинами, які не подібні до імуноглобулінів [26].

Дані про те, що подібні структури можуть бути суттєвими для культивування фагів у лабораторних умовах, поки відсутні, проте у певній екосистемі, наприклад, подібній як у кишечнику тварин, їх роль може бути помітною, зокрема за рахунок збільшення ймовірності конвертованої адсорбції при зіткненні фагової частки з потенційно придатною клітиною-хазяїном. Збільшення швидкості адсорбції, проте, «вигідне» далеко не у всіх випадках [14]. При вирощуванні фагів на культурі хазяїв з високою кількістю клітин, імобілізованих у в'язкому агаризованому середовищі (наприклад, при посіві двошаровим методом), мутанти, що мають нижчу константу адсорбції, отримують значну перевагу і утворюють бляшки більшого розміру і з великим вмістом вірусних часток [27]. Це пов'язано із збільшенням швидкості дифузії вірусу як в межах в'язкого середовища, насиченого клітинами хазяїв, так і в навколишню рідку фазу. Аналогічні переваги фаги, що повільно адсорбуються, можуть мати при розвитку всередині біоплівок і при поширенні на нові ділянки [14]. Механізми, що призводять до зворотної втрати другорядних адгезинів (наприклад, частини хвостових фібрил багатьох фагів) можуть мати, таким чином, істотне значення при адаптації фага до зростання на біоплівках бактерій або на планктонних клітинах [27].

Сучасні лікувально-профілактичні бактеріофаги являють собою комплекс поліклональних високовірулентних бактеріальних вірусів, спеціально підібраних проти груп збудників бактеріальних інфекцій, що найчастіше зустрічаються [1]. Сьогодні номенклатура розроблених



препаратів бактеріофагів налічує понад десяток найменувань. Враховуючи широкий спектр їх лікарських форм та численність торгівельних марок, під якими вони випускаються, їх кількість збільшується до 3–4 десятків. Серед цих препаратів виділяють монофаги (стафілококовий, стрептококовий, ешерихіозний, протейний, псевдомонадний, клебсієльозний) та комбіновані фаги [3]. Відомі комбіновані препарати з декількох видів бактеріофагів: колі-протейний, піобактеріофаг (проти стафілококів, стрептококів, клебсієл, протеїв, синьогнійної і кишкової палички), інтесті-фаг (проти шигел, сальмонел, стафілококів, ентерококів, протеїв, кишкової і синьогнійної палички) [7], секстафаг для лікування гнійно-септичних захворювань [9]. Для лікування захворювань вірусно-бактеріального походження виготовлено комплексний препарат Інтерфаг, який містить інтерферон та фаг. Для лікування опікових ран розроблено Bioderm, виготовлений з полімеру, до якого входять бактеріофаг і інші ліки [3].

Здатність вірулентних фагів при взаємодії з бактеріями інтегрувати власну геномну ДНК і експоненційно реплікуватися призводить до знищення патогенних бактерій, а отже, вказує на те, що вони можуть грати важливу роль у боротьбі з інфекційними захворюваннями, у тому числі і зумовленими розвитком біоплівки [16].

Бактеріофаги мають високий терапевтичний потенціал і використовуються як антибактеріальні агенти для терапії вже багато років. Однак ефективність бактеріофагів є нижчою через їх високу специфічність до хазяїв, ніж у хімічних антибіотиків, у зв'язку з чим терапевтичні бактеріофаги залишаються допоміжними засобами при бактеріальних інфекціях [10].

Відзначені позитивні якості бактеріофагів: відсутність токсичної дії на організм, розвиток алергійних реакцій, дисбактеріозів. Протипоказань до застосування бактеріофагів нема [6].

Препарати бактеріофагів періодично збагачуються новими фаговими клонами, що дозволяє їм відповідати змінам рецепторної структури збудників. У зв'язку з небезпекою поширення внутрішньолікарняних інфекцій, резистентних до більшості або до всіх відомих антибіотиків, ведуться роботи по виділенню з бактеріофагів компонентів, які згубно діють на бактеріальні клітини, а також з отримання ділянок ДНК бактеріофагів, відповідальних за синтез бактерицидних агентів; створюються комплексні препарати бактеріофагів для застосування у лікувальних і діагностичних цілях [17].

Наукова методологія може бути спрямована на терапію фагами як автономну терапію для інфекцій, які є повністю стійкими до антибіотиків [28, 32, 37].



## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Акимкин В.Г., Дарбеева О.С., Колков В.Ф.* Бактериофаги: исторические и современные аспекты их применения: опыт и перспективы // Клиническая практика. — 2010. — № 4. — С. 48–54.
2. *Алсынбаев М.М., Медведев Ю.А., Туйгунов М.М.* Биопрепараты и ведущие направления их лечебно-профилактического применения. — Уфа: РИО филиала “Иммунопрепарат” ФГУП “НПО “Микроген” МЗ РФ, 2008. — 100 с.
3. *Асланов Б.И., Яфаев Р.Х., Зуева Л.П.* Пути рационального использования синегнойных бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2003. — № 5. — С. 72–77.
4. *Афиногенова А.Г., Грабовская К.Б., Кулешевич Е.В., Суворов А.Н., Афиногенов Г.Е.* Влияние бигуанидов на формирование стрептококковой биопленки на модели культуры клеток фибробластов кожи эмбриона человека // Инфекции в хирургии. — 2011. — Т. 9, № 1. — С. 5–13.
5. *Бактериофаги: биология и практическое применение* / Под ред. Э. Каттер, А. Сулаквелидзе. — М.: Научный мир, 2012. — 640 с.
6. *Бондарев Р.В., Бондарев В.И., Селиванов С.С., Орехов А.А.* Применение адаптированных бактериофагов в комплексном лечении больных острым гнойным холангитом // Український журнал хірургії. — 2011. — № 5. — С. 150–154.
7. *Бондаренко В.М.* Клинический эффект и пути рационального использования лечебных бактериофагов в медицинской практике // Журнал инфектологии. — 2011. — Т. 3, № 3. — С. 15–19.
8. *Вознесенский Н.А.* Биопленки — терапевтическая мишень при хронических инфекциях // Пульмонология и алергология. — 2008. — № 3. — С. 56–64.
9. *Габриэлян Н.И., Горская Е.М., Цирульникова О.М.* Возможности использования бактериофагов в хирургии и трансплантологии // Вестник трансплантологии и искусственных органов. — 2012. — Т. XIV, № 1. — С. 106–113.
10. *Дятлов И.А., Светоч Э.А.* Новации в борьбе с антибиотикоустойчивыми штаммами бактериальных инфекций // Современные медицинские технологии. — 2011. — № 6. — С. 32–36.
11. *Ильина Т.С., Романова Ю.М., Гинцбург А.Л.* Биопленки как способ существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина: феномен, генетический контроль и системы регуляции их развития // Генетика. — 2004. — Т. 40, № 11. — С. 1445–1456.
12. *Коцар О.В.* Аналіз проблеми антибіотико- та фаготерапії захворювань, зумовлених патогенною та умовно-патогенною мікрофлорою // Буковинський медичний вісник. — 2009. — Т. 13, № 3. — С. 123–127.



13. Красильников И.В., Лыско К.А., Отрашевская Е.В. Препараты бактериофагов: краткий обзор современного состояния и перспектив развития // Сибирский медицинский журнал. — 2011. — Т. 26, № 2. — С. 33–37.
14. Летаров А.В., Голомидова А.К., Тарасян К.К. Экологические основы рациональной фаговой терапии // Acta Naturae. — 2010. — Т. 2, № 1. — С. 66–79.
15. Микробиология, вирусология и иммунология / Под ред. В.Н. Царёва. — М.: Практическая медицина, 2009. — 581 с.
16. Мирошников К.А., Чертков О.В., Назаров П.А., Месянжинов В.В. Пептидогликанлизирующие ферменты бактериофагов — перспективные противобактериальные агенты // Успехи биологической химии. — 2006. — Т. 46. — С. 65–98.
17. Романова С. Бактериофаги ... или перспективные вирусы // Ремедиум. — 2009. — № 11. — С. 54–55.
18. Сидоренко С.В. Роль бактериальных биопленок в патологии человека // Инфекции в хирургии. — 2004. — Т. 2, № 3. — С. 16–20.
19. Смирнова Т.А., Диденко Л.В., Азизбекян Р.Р., Романова Ю.М. Структурно-функциональная характеристика бактериальных биопленок // Микробиология. — 2010. — Т. 79, № 4. — С. 435–446.
20. Тодосійчук Т.С., Стрелець Т.І., Конопатська С.В. Підвищення стійкості мікробних патогенів як фактор розробки нових антисептиків // Наукові вісті НТУУ «КПІ». — 2011. — № 3. — С. 90–97.
21. Abedon S.T. Bacteriophages and Biofilms: Ecology, Phage Therapy, Plaques / S.T. Abedon. — New York: Nova Science Publishers, Hauppauge, 2011. — 131 p.
22. Brockstedt D.G., Bahjat K.S., Giedlin M.A., Liu W., Leong M., Lockett W., Gao Y., Schnupf P., Kapadia D. & other authors. Killed but metabolically active microbes: a new vaccine paradigm for eliciting effector T-cell responses and protective immunity // Nature Med. — 2005. — V. 11. — P. 853–860.
23. Cairns B.J., Timms A.R., Jansen V.A.A., Connerton I.F., Payne R.J.H. (2009) Quantitative models of in vitro bacteriophage-host dynamics and their application to phage therapy // PLoS Pathog. — 2009. — V. 5(1): e1000253. doi:10.1371/journal.ppat.1000253.
24. Costerton J.W., Montanaro L., Aciola C.R. Biofilm in implant infections: its production and regulation // Int. J. Artif. Organs. — 2005. — № 28. — P. 1062–1068.
25. Davey M.E., O'Tool G.A. Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics // Microbiology and molecular biology reviews. — 2000. — V. 64, № 4. — P. 847–867.
26. Fraser J.S., Maxwell K.L., Davidson A.R. Immunoglobulin-like domains on bacteriophage: Weapons of modest damage? // Curr. Opin.



Microbiol. — 2007. — V. 10. — P. 382–387.

27. *Gallet R., Shao Y., Wang I.* High adsorption rate is detrimental to bacteriophage fitness in a biofilm-like environment // BMC Evolutionary Biology. — 2009. — V. 9. — P. 241–252.

28. *Harper D.R., Enright M.C.* Bacteriophages for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections // Appl. Microbiol. — 2011. — V. 111 (1). — P. 1–7.

29. *Hawkey P.M., Jones A.M.* The changing epidemiology of resistance // J Antimicrob Chemother. — 2009. — V. 64. — P. 3–10.

30. *Lewis K.* Multidrug tolerance of biofilms and persister cells // Curr. Top. Microbiol. Immunol. — 2008. — V. 322. — P. 107–131.

31. *Livermore D.M.* Has the era of untreatable infections arrived? // J Antimicrob Chemother. — 2009. — V. 64. — P. 29–36.

32. *Loeffler J.M., Djurkovic S., Fischetti V.A.* Phage lytic enzyme Cpl-1 as a novel antimicrobial for pneumococcal bacteremia // Infect. Immun. — 2003. — V. 71. — P. 6199–6204.

33. *Macfarlane S., Dillon J.F.* Microbial biofilms in the human gastrointestinal tract // J. Applied Microbiology. — 2007. — V. 102. — P. 1187–1196.

34. *Matsuzaki S., Rashel M., Uchiyama J., Sakurai S., Ujihara T., Kuroda M., Ikeuchi M., Tani T., Fujieda M., Wakiguchi H., Imai S.* Bacteriophage therapy: a revitalized therapy against bacterial infectious diseases // J. Infect. Chemother. — 2005. — V. 11. — P. 211–219.

35. *Rodney M.* Biofilms formation a clinically relevant microbiological process // Healthcare epidemiology. — 2001. — V. 33. — P. 1387–1392.

36. *Veiga-Crespo P., Barros-Velazquez J., Villa T.G.* What can bacteriophages do for us? // Communicating current research and educational topics and trends in applied microbiology. — Spain : Formatex, 2007. — V. 2. — P. 885–893.

37. *Vinodkumar C.S., Makari H.K., Srinivasa H., Basavarajappa K.G., Kalsurmath S.* Bacteriophage therapy: A potential use of phages in medical field // Res. Rev. BioSciences. — 2009. — V. 12 (1). — P. 22–28.

38. *Vinodkumar C.S., Kalsurmath S., Neelagund Y.F.* Utility of lytic bacteriophage in the treatment of multidrugresistant *Pseudomonas aeruginosa* septicemia in mice // Indian. J. Pathol. Microbiol. — 2008. — V. 51. — P. 360–366.

39. *Webb J.S., Lau M., Kjelleberg S.* Bacteriophage and Phenotypic Variation in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Development // J. Bacteriol. — 2004. — V. 186. — P. 8066–8073.

40. *Weber-Dabrowska B., Zimecki M., Kruzel M., Kochanowska I., Lusiak-Szelachowska M.* Alternative therapies in antibiotic-resistant infection // Advances in Medical Sciences. — 2006. — V. 51. — P. 242–244.

Стаття надійшла до редакції 25.01.2013 р.



**Є.С. Воробей, О.С. Воронкова, І.В. Малиновская, А.И. Винников**

Днепропетровский национальный университет им. Олесь Гончара,  
пр-т Гагарина, 72, Днепропетровск, Украина, тел.: +38(056) 374 97 34,  
e-mail: elizaveta.vorobey@mail.ru

## **БАКТЕРИОФАГИ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА БАКТЕРИАЛЬНЫЕ БИОПЛЕНКИ**

### **Реферат**

Обзор посвящен вопросам взаимодействия бактериофагов и бактериальных клеток в биопленке и возможностям регулирования роста биопленки при участии бактериофагов. Необходимость решения данной проблемы возникает из-за значительного распространения устойчивости клинических изолятов бактерий к антибиотикам, что определяет снижение эффективности антибиотической терапии в целом. В современной клинической практике установлено возрастание количества заболеваний, обусловленных развитием биопленки, в составе которой бактерии получают дополнительные преимущества, в том числе и повышение резистентности к действию антибиотиков. Показаны особенности фаговой инфекции по отношению к свободным клеткам бактерий и клеткам в составе микроколоний в биопленке. Представленные данные раскрывают возможности бактериофагов в борьбе с бактериальными биопленками, состоящими из условно-патогенных бактерий. Приведены данные о механизме взаимодействия фагов с клетками бактерий в биопленке и возможности разрушения фаговыми ферментами межклеточного матрикса.

**Ключевые слова:** бактериофаги, микробные биопленки, регуляция роста биопленки, биологические свойства бактерий.



**E.S. Vorobey, O.S. Voronkova, I.V. Malinovska, A.I. Vinnikov**

Oles Honchar Dniepropetrovsk National University, 72, Gagarin ave., Dniepropetrovsk,  
Ukraine, tel.: +38(056) 374 97 34, e-mail: elizaveta.vorobey@mail.ru

## **BACTERIOPHAGES AND THEIR EFFECT ON BACTERIAL BIOFILMS**

### **Summary**

The review is devoted to the questions of bacteriophages and bacterial cells interaction in a biofilm and to opportunities of regulation of biofilm growth by bacteriophages. Wide spread of antibioticresistance of clinical isolates of bacteria and decreasing of antibiotic therapy efficacy requires a new solution. In modern clinical practice there were observed increasing of number of the infections caused by bacterial biofilm, besides bacteria, as a part of this structure, possess some advantages, including resistance to antibiotics. The features of phage infection in plankton culture and in biofilm are shown. Submitted data describe possibilities of bacteriophages used against bacterial biofilms, which consist of conditionally-pathogenous bacteria. Data on the mechanism of interaction of phages with cells of bacteria are provided in a biofilm as well as possibility to destruct intercellular matrix by phage encoded enzymes.

**Key words:** bacteriophages, microbial biofilms, regulation of biofilm growth, biological properties of bacteria.

