

БАКТЕРІОФАГИ. СУЧАСНА ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ ТА ЇЇ ІСТОРИЧНІ ІНТЕРПРЕТАЦІЇ

^{1,3}Торяник І.І., ^{1,2}Калініченко С.В., ¹Мінухін В.В.,
¹Мелентьєва Х.В., ¹Моїсєєнко Т.М.,
¹Овеччин П.В., ⁴Мельник А.Л.

¹Державна установа «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова Національної академії медичних наук України»

²Харківський Національний університет ім. В.Н. Каразіна

³Харківський національний медичний університет

⁴Запорізький державний медичний університет

Вступ. Наприкінці 2009 року у Стокгольмі (Швеція) відбулась фахова конференція під егідою розв'язання інноваційних завдань з питань ефективності антибактеріальних препаратів. Фаховими спеціалістами ЄС була анонсована інформація стосовно щорічної летальності пацієнтів з медикаментозною резистентністю (25 000 на рік). У спільному комюніке підкреслювалось, що розробка нових форм антибіотичних препаратів, їхні клінічні випробування та реєстрація тривають роками, обходячись бюджетам розвинутих країн у сотні мільйонів доларів США [1, 2]. Застосування антибіотиків неодмінно сприяє виникненню стійких форм бактерій. На тлі зазначеного представниками об'єднаної робочої групи Європейського центра з контролю та профілактики захворювань (European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC) та Європейської агенції з оцінки лікарських засобів (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, EMA) була акцентована увага на те, що за період з 70-х по 90-ті роки минулого сторіччя не було відкрито жодного нового класу антибіотиків [3, 4, 5]. Ситуація змінилась на краще лише на початку 2000-х, коли з'явилися препарати класу циклічних ліпопептидів та оксазолідинів. Кількість нових препаратів антибіотиків неуклінно спадала, їхня фармакологічна складова прогресивно втрачала актуальність. Шокуючою ілюстрацією до відображених подій стали повідомлення Управління з контролю та якості за продуктами і ліками Сполучених Штатів (US Food and Drug Administration, FDA) щодо кількісного розриву у отриманні препаратів за період з 1991 по 1995 роки. (26 фармакологічних аналогів) та з 2000 по 2003 роки (3 аналогів). У виступах фахівців також зауважувалось, що економічні збитки за антибіотикорезистентністю становили десятки та сотні мільйонів доларів [6]. За даним економістів, ці показники у країнах ЄС досягли цифри майже у 1,5 млрд євро на рік. [7]. Отже, за таких умов гідною потенційною заміною

антибіотикам здатні стати бактеріофаги – група ультрамікроскопічних біологічних агентів з більш, ніж віковою історією.

Мета: провести аналіз сучасних та ретроспективних (історичних) даних щодо можливостей та перспектив використання бактеріофагів у медичній галузі (вірусології, зоокема).

Підґрунтям стали ретроспективні дані (архіви, копії лабораторних проб, консультативних заключень) та багаторічні розробки (первинний матеріал за експериментальними дослідженнями, копії витягів зі звітів; фрагменти-розділи поточних науково-дослідних робіт з проблем застосування бактеріофагів у фагодіагностиці та фагопрофілактиці), що отримані у лабораторії вірусних інфекцій ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України» (2015-2020 рр.). З метою об'єктивізації роботи проводили розширений аналітичний огляд тематичних джерел науково-теоретичної, методологічної, патентної інформації (за ключовими прототипами: бактеріофаг, абсолютний клітинний паразитизм, бактеріофагія, лізис, адсорбція, ін'єкція, синтез молекул фагу, історія відкриття та дослідження бактеріофагів). Пошук проводили за базами даних бібліоресурсів пошукових систем «Google», «Yandex», «Rambler» та інші.

Фундаментальні положення та визначення.

Термін бактеріофаг походить від двох лінгвістичних коренів латинського: *bacterio* – паличка та давньогрецького *phagos*– пожирач [8]. Фахівцями, що протягом десятиліть займаються дослідженнями бактеріофагів, історією їхнього відкриття, становлення фундаментальних напрямків зазначається наявність мінімум двох синонімів : фаг та бактеріальний вірус. У першій половині ХХ століття під цими назвами розглядають ультрамікроскопічні біологічні агенти корпускулярної природи з (імовірно) основними властивостями вірусів та здатністю до розчинення бактерій та актиноміцет [9]. На сьогодні вченими бактеріофаги сміливо та свідомо ототожнюються з вірусами, що вибірково пожирають бактеріальні клітини [10]. Фаги є найчисленнішою групою вірусів на планеті. Вони спостерігаються у всіх можливих еконішах, що належать їхнім господарям – бактеріям. Бактеріофаги мають масштабне розповсюдження як у воді та ґрунті, так і біологічних системах/субстанціях (травному та дихальному трактах тварин і людини, серед хвороботворних і нехвороботворних бактерій) [11]. Роботами вітчизняних та закордонних вчених об'єктивно доведено, що бактеріальні віруси успішно уражують фітопатогенні бактерії, актиноміцети, синьо-зелені водорості, мікоплазми [9, 12]. Фаги

характеризуються певною мірою специфічності. Останнє полягає у здатності до лізису бактерій одного виду (моновалентні фаги), одного й того ж виду (типові фаги) чи бактерії різних, але близьких між собою видів (полівалентні фаги). За власною хімічною будовою фаги складаються з двох основних хімічних компонентів — нуклеїнової кислоти (ДНК або РНК) та протеїну. За морфологічною специфікою бактеріофаги диференціюють на декілька типів, серед них переважну більшість складають ті, що нагадують за формою сперматозоїди. За цим посідають другу позицію бактеріофаги кубічної та ниткоподібної форм з розмірами від 20 до 800 м⁻⁹ [13]. Фаги (віруси бактерій) називають доволі простою біологічною системою та модельним об'єктом, вельми зручними для експериментів з подальшою екстраполяцією отриманих результатів. Останні безпосередньо стосуються основних проблем вірусології, молекулярної біології, біотехнології, біохімії, імунології, радіобіології та ефективно застосовуються даними науковими галузями для широких потреб народного господарства. Дослідниками також зазначається, що позначені успіхи у вивченні механізмів реплікації нуклеїнових кислот, структури генетичного матеріалу, молекулярних механізмів мутацій, регуляції синтезу протеїнів, ціла низка інших досягнень біології нерозривно пов'язані з активним та цілеспрямованим застосуванням бактеріофагів [9, 12, 13].

Фагам, як і всім іншим вірусам, властивий абсолютний клітинний паразитизм. Вони містять певні об'єми корисної інформації, актуальної для власної репродукції і, водночас, не мають власних енерго- синтезуючих систем та протеїн- синтезуючих ресурсів. Антибактеріальний ефект препаратів бактеріофагів зумовлений втручанням геномів фагу до бактерії з подальшим його розмноженням та наступним лізисом інфікованої клітини. Зосереджені у зовні за умов розгортання зазначеного процедурного моменту (як наслідку лізису) бактеріофаги починають удруге інфікувати та піддавати лізису інші бактеріальні клітини вщерть до тотального знищення останніх. Яскравою ілюстрацією до цього є вогнища запалень та часткового некрозу. З точки зору медичної доцільності застосування, препарати бактеріофагів мають неоціненні якості та переваги. Останні стосуються як доволі високої специфічності відносно штамів-хазяїв, так і у сенсі відсутності токсичності. Бактеріофаги не здатні спричинювати та підтримувати дисбактеріози, алергічні реакції, їх можна застосовувати як самостійні лікарські засоби, так і у сукупності із антибіотиками, імунопрепаратами. Зважаючи на це, наука про віруси бактерій, що розвивалась з початку як вузькоспеціалізована галузь медичної та ветеринарної

мікробіології на сьогодні набуває загально біологічного значення [12, 13, 14]. За фагами (як біологічними організмами) спостерігається доволі висока стійкість до впливу фізичних та хімічних факторів оточуючого середовища, ніж зазначена властивість у численних та добре відомих вірусів людини (парагрипу, гепатиту G, аденовірусної, респіраторно- синцитіальної, риновірусної, реовірусної інфекцій, простого герпесу). Більшість із них інактивуються за температурними режимами більш, ніж 65–70 °С, успішно переносять заморозку, здатні тривалий час зберігатись у разі криоконсервації та висушування. 0,5 % розчин сулеми та 1,0 % розчин фенолу не призводять до їхньої інактивації. Однак вони гостро реагують на 1,0 % водяний розчин формальдегіду, коли майже блискавично (декілька хвилин) відбувається інактивація фагових часток. Існують публікації, що свідчать на користь високої резистентності бактеріофагів до впливу іонізуючої радіації, ультрафіолетового та інфрачервоного опромінювань [12].

Бактеріофаги різняться за власною хімічною будовою, структурами фагових часточок, морфологією негативних колоній, типами нуклеїнових кислот, характером взаємодії з мікробною клітиною. Визначення бактеріофагів орієнтоване на застосування літер латинського та грецького алфавітів: λ, φX174, fd, f2, R17, T2 (достеменно відомі фаги кишкової палички). Для бактеріофагів (у стані позаклітинних формацій), як для всіх вірусів, характерна метаболічна інертність часточок. Зовні переважна більшість фагів мають добре сформовану ікосаедричну голівку та хвіст різної виразності та додатковими структурами, що опосередковують адсорбцію фагів на бактеріальній клітині. Класична фагова частина – віріон складається із голівки та відростка (хвоста). Розмірові дані фагів сягають 20–200 нм. За даними спеціалістів середній діаметр головки становить 60–100 нм, довжина відростка 100–200 нм. Довжина хвоста за звичай у 2–4 рази більше діаметру голівки. Голівка являється сховищем генетичного матеріалу (на кшталт, одно- чи дволанцюгової ДНК із ферментом транскриптазою у неактивній формі та протеїновою оболонкою – капсидом). Капсид разом із нуклеїновою кислотою утворюють нуклеокапсид. Щодо будови хвоста, то останній являє собою протеїнову трубку – частину білкової оболонки головки. У базальній частині хвоста є АТФ-аза, яка регенерує енергію для ін'єкції генетичного матеріалу. Відросток має вигляд пустої трубки (зі вмістом скорочувальних білків), вкритою оболонкою. Деякі віруси демонструють здатність власних оболонок до скорочення вщерть до стрижія. Кінець відростка містять базальну пластину з пролонгованими нитками, що сприяють прикріпленню фагів до бактерій. Зазначені структурні

домінанти надають бактеріофагам цілковиту можливість ефективно нівелювати активність певних груп мікроорганізмів, відіграючи роль ґрунтовних конкурентів окремим противірусним, хіміопрепаратам та антибіотикам (з огляду на те, що все частіше останні демонструють резистентність, а їхній хімічний спектр проспективно звужується) [12, 13, 15]. В умовах безпрецедентного зростання резистентності мікроорганізмів до антибіотиків розробка нових альтернативних лікувальних технологій, антимікробних препаратів набуває все більшої значущості. За даними експертів Всесвітньої організації охорони здоров'я, медикаментозна стійкість мікроорганізмів у найближчий час може звести нанівець усі попередні та сучасні досягнення медицини [7, 16]. Заходи по боротьбі з інфекційними захворюваннями виявляться марними, а власне інфекції, сягнуть рангу тотальної некерованості. За таких умов вектор медико-біологічних технологій має бути орієнтованим на фаготерапію, що надійно озброєна потужним потенціалом можливостей та перспектив ефективною відповіді на зміни, виниклі у популяціях бактеріальних патогенів та відіграє роль імовірної парадигми лікувального /превентивного напрямів у медицині [17].

Не зважаючи на велич накопиченого наукового матеріалу з проблеми вивчення біологічних властивостей бактеріофагів, безліч питань, пов'язаних із фундаментальними положеннями їхнього застосування, вимагають обов'язкових подальших досліджень. Так, у переважній більшості достеменно вивчених модельних фагів Т-серії до тепер не вдається з'ясувати функції актуальних із числа синтезованих ними продуктів. Відсутня й най досі єдина схема таксономії та морфологічної класифікації цих мікроорганізмів, не має стандартних наборів бактеріофагів численних захворювань як людини, так і тварин. Останнє суттєвим чином унеможливило створення стандартних чи близьких до того схем та регламентів їхнього застосування. Згадане вище, демонструє наявність певних технічних, теоретичних пересторіг, оголює насувні питання розвитку науки про бактеріофаги. Тоді суттєвою підмогою у розв'язанні зазначеної проблеми залишається всебічне вивчення її історичних коренів та постулатів.

Історичні довідки та концепти.

Відкриття вірусів бактерій стало результатом попереднього стрімкого розвитку мікробіології наприкінці XIX століття. Ідеї та концепти видатного дослідника Л. Пастера щодо бактеріальної етіології інфекційних захворювань, рясно опрацьовані у 80-ті роки позаминулого століття, методи культивування мікроорганізмів на поживних середовищах, зміцнення

ідей мономорфізму, спонукало подальше більш ґрунтовне та доказове для тієї епохи вивчення морфологічної та фізіологічної специфіки мікробів [8, 9, 12, 13, 14]. Карколомні повідомлення щодо фактів наявності спонтанного лізису; відкриття д'Ереллем 3 вересня 1917 року бактеріофагів, змінили сталі доктрини тодішніх наукових світил та вивели експериментальні дослідження на черговий виток стрімкого злету. У 1892 році В. Крузе та С. Пансині гучно заявляють щодо феномену спонтанного розчину бактеріальних культур у разі дослідження росту пневмококів. Невдовзі за цим талановитим бактеріологом М. Ганкіним (1896) зроблене повідомлення про позначений бактерицидний вплив на холерний вібріон води із річок Джамна та Ганг (Індія). Дослідник засвідчив факт збереження бактерицидних властивостей води зазначених річок навіть після пропускання останньої через бактеріальний фільтр. У 1898 році Н. Ф. Гамалея виявив лізис бактерій - збудників сибірської виразки під впливом перещепленого агента. Вченому належить першість термінологічного «устаткування» зазначеного феномену: «бактеріоліз». Десяті роки наступного століття ознаменовані фактами відкриття вірусів, що паразитують на бактеріях. У 1915 році виходить у світ гучна стаття англійського бактеріолога Фредеріка Туорта з даними про інфекційну хворобу стафілококів. В ній автор зауважував на наявність вільного проходження інфікуючого агента через фільтри та можливість його перенесення від однієї колонії до іншої. Незалежно від Ф. Туорта франко-канадієць Фелікс д'Ерелль запроваджує у сучасну мікробіологію термін «бактеріофаг». Відкриття явищ бактеріофагії спонукають Ф. д'Ерелля до подальшого розвитку концепцій абсолютного паразитизму бактеріофагів, їхньої ролі у патогенезі інфекцій, створенні імунітету, у решті решт, цілковитого одужання хворих. Вчений недвозначно заявляв щодо можливості застосування виявлених властивостей бактеріофагів у терапії інфекційних захворювань, їхній профілактиці, що прикуло до бактеріофагів увагу мікробіологів усього цивілізованого світу [8, 9, 14]. Цільові напрямки у вивченні фагів йшли у паралелі з фундаментальними дослідженнями (з'ясування їхньої природи, механізмів взаємодії, перспектив моделювання та екстраполяції). Наснажливо вивчаючи властивості бактеріофагів, Ф. д'Ерелль запропонував суспільству два способи кількісного визначення часточок останнього. Перший стосувався лізису бульйонних культур бактерій (за умов внесення прогресивно мінімізованого концентрату бактеріофагу, вщерть до лізату, коли додають поодинокі часточки фагу – кінцеве розведення). У другому випадку орієнтація виводилась на число утворених у разі спостережень «стерильних» плям за умов посівів розведеного лізату

на бактеріальний 5-й газон (щільне живильне середовище). Зазначений метод у модифікації А. Грація знаходить широке застосування у мікробіології й на тепер. Згодом, вивчаючи взаємодію бактеріофагів із мікроорганізмами, Ф. д'Ерелль відмітив етапний процес, що стартував прикріпленням фагів до поверхні клітини, втручанням до її інтимних внутрішніх структур, розмноженням з подальшим лізисом та виходом із неї до 25 часточок бактеріофагу. Саме йому вперше вдалось спостерігати за умов темнопольної мікроскопії лізис бактеріальної клітини та появу близько 25 мінімізованих «блискучих» фрагментів. Кількість останніх відповідала чисельності стерильних плям, утворених у результаті висіву лізату на бактеріальний газон. Повторні спостереження, проведені вченим, дали підставу вважати «блискучі фрагменти» часточками бактеріофагу. Згодом отримані результати (разом із іншим експериментальним матеріалом: здатність проходити через бактеріальні фільтри певної пористості, утворення осаду за умов пролонгованих спостережень) зміцнили ґрунтовність висновків на користь корпускулярної теорії бактеріофагу. д'Ереллю належить також висновок щодо автономності антигенного складу фагів та їхньої високої адаптивної здатності, підтвердженням чого вважали його мінливість. д'Ерелль весь час вважав, що існує виключно один вид бактеріофагу – *Bacteriophagum intestinale*. Саме він характеризується високим внутрішньоклітинним паразитизмом та може розглядатися у якості суттєвого фактору загрози для хвороботворних мікробів. Роботи Фредеріка Туорта та Фелікса д'Ерелля знаменували завершення перших успішних дослідницьких проб у вивченні бактеріофагів. Епоха великих «фагових» відкриттів, розквіту ідей мономорфізму спливала кінця [18].

Перший етап ери дослідження бактеріофагів офіційно датований 30-ми - 50-ми роками ХХ століття [12, 13, 18, 19]. Саме він став в історії світової мікробіології часом численних фундаментальних винаходів, зародження та первинного становлення нової наукової дисципліни - молекулярної біології. У цей хронологічний період світ дізнався про генетичну роль ДНК, опосередкованість функцій РНК, розшифровку генетичного коду. На-жаль поступовому розвитку наукових пізнань з проблеми бактеріофагів завадила Друга світова війна та її карколомні наслідки для людства. Успіхи теоретичної науки, у тому числі, фізичної хімії, теоретичної фізики певним чином відтіснили на другий план розробки у сфері фізіології та медицини. Інтерес до бактеріофагів спадав за тих чи інших причин, разом із цим знижувався публікаційний «стронг», пов'язаний із бактеріофагом як об'єктом наукового пошуку. 70- ті роки минулого століття переорієнтували наукову свідомість у бік більш перспективних досліджень, у

тому числі, вивчення еукаріотичних систем. Недофінансування галузі, унеможливлення проведення фундаментальних розробок, нестача спеціалістів, відсутність «ідей» за рахунок відтоку «мізків», дотримка застарілих догматів призвели до різкого зниження науково-теоретичного, методологічного рівня проведених досліджень та зменшення їхнього кількісного фактору взагалі [18, 19]. Другий етап ери бактеріофагів стартував на початку 80-х - 90-х років минулого століття, коли фаги та отримані із них продукти здійснили суттєвий вплив на розвиток біотехнології. Добре відомі науковій спільноті технології рекомбінантних ДНК отримали імпульс до розвитку за рахунок бактеріофагів як первинних факторів або частин первинних векторів. Серед останніх фахівці називають реплікони фагмід, упаковочні сигнали космід, промотори експресійних та сигналізатори вбудови інтеграційних векторів. На основі бактеріофагів була отримана переважна більшість ферментів, як об'єктів досліджень стандартної молекулярно-біологічної лабораторії (протеїни, що беруть участь у комплектації одноланцюгових ДНК; ендо- та екзонуклеази, інтегрази, ДНК/РНК-лігази, полімерази, рекомбінази, метилази, ендонуклеази рестрикції) [18, 19].

Поряд із цим тривали дослідження, цілеспрямовані на більш ґрунтовне вивчення питань медикаментозної резистентності штамів мікроорганізмів, етіологічних факторів системних гнійно-запальних захворювань (респіраторної, травної, уrogenітальної систем). Зацікавленість зазначеною проблемою пояснювалась розвитком хронізацій, ризиком виникнення синдрому системного запалення (SIRS – Systemic Inflammatory Response Syndrome), появою обтяжених та тяжких, загрозливих здоров'ю та життю людини ускладнень [10, 20, 21]. У широких наукових колах заговорили стосовно тенденційних феноменів клінічної практики : мінливості спектра збудників розповсюджених інфекційно-запальних захворювань, збільшення кількості штамів мікроорганізмів, резистентних до антибактеріальної терапії, появи атипичних, стертих форм перебігу хвороб, що відбувались на тлі вторинних імунodefіцитів та розвитку супутньої грибкової патології. Типові помилки у разі проведення антибактеріальної терапії зумовлювались невірним вибором препаратів, шляхами їхнього введення, вибору дози, передчасному припиненні або порушенні схеми прийому антибіотиків. Широка доступність різних груп антибактеріальних препаратів розкривала неохватні простори до самолікування, результатом чого ставало вкрай пізнім звернення до фахівців, коли хвороба набувала хронізації / злякисного перебігу. Дільничні терапевти/сімейні лікарі доволі часто

зловживали антибіотичними препаратами, безпідставно призначаючи надсучасні для того дня лікарські форми - представники передових поколінь. Згадані обставини вкрай негативно відгукнулись на ефективності антибактеріальної терапії.

Сучасний стан проблеми. Історичні дані свідчать про те, що науковці держав колишньої співдружності займали лідируючі позиції у сферах виробництва та застосування лікувально-профілактичних бактеріофагів. Так, Крестовніковою В.О. вперше у світі була опрацьована технологія промислового виготовлення бактеріофагів. Останні включали одномоментний запас бактеріальної культури та агу у мінімальній кількості харчового середовища, введення в готовий препарат в якості консерванту хінозолу в дозі 1:10000, стандартизацію контрольних процедур з визначенням титру фага (в серійній продукції за методом Аппельмана) [8, 9, 10, 18, 19]. На тепер згадані вище біотехнологічні прийоми використовують у виробництві лікарських препаратів бактеріофагів. Спектр отриманих підприємствами цих препаратів, наведені в інструкціях області клінічного застосування доволі широкі та стосуються гнійно-запальних захворювань різних локацій. Перший досвід застосування фагів у привентації та лікуванні гнійно-запальних хвороб ЛОР-органів також належав двом групам відомих лікарів-дослідників: Н.А. Преображенському, І.І. Гольдману, А.І. Ліпкіну, Л.Л. Волосевичу, Л.Д. Кривохатській, О.С. Чемеркіну. Ними була розроблена методика терапії монохронічного гнійного середнього отиту лікувальними препаратами стафілококового та синегнійного бактеріофагів. Деякими роками потому опрацьований та зареєстрований препарат полівалентного бактеріофага клебсіел з високою ефективністю щодо атрофічних форм озени (58 хворих), риносклероми (38), гнійних синуситів (5), запалень середнього вуха (4). У всіх представлених випадках отриманий позитивний клінічний ефект за відсутності побічних реакцій на препарат. У разі порівняльного вивчення антибактеріальної активності препарату полівалентного бактеріофага клебсіел та 12 антибіотиків доведена панрезистентність клінічних штамів *K. ozaenae*, *K. rhinoscleromatis* до антибіотиків та високий лізис збудників (відповідно 90% - 94%). Аналогом за суттю та отриманими результатами стало порівняльне клінічне дослідження фагів і антибіотиків, проведене Сакалалідзе В.М. у разі лікування інфекційних алергозів, викликаних *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *E. coli*, *Proteus* spp., *Enterococcus* spp. та *P. Aeruginosa*.

На думку фахівців, одними із більш доступних та запотребуваних сфер застосування бактеріофагів стали оториноларингологія та педіатрія, де досвід застосування згаданих препаратів виявився

найсуттєвішим. Стратієвою О.В. (1995) був запропонований спосіб лікування гострих та рецидивуючих параназальних синуситів у дітей шляхом введення до параназальних пазух (пункційно чи шляхом катетерізації) препаратів полівалентного очищеного ліобактеріофага. Позитивний клінічний ефект отримали у 66,7% хворих (без явних порушень проходу природних комунікантів). Дещо згодом спеціалістами суміжних установ на тлі локального застосування розведеного) комбінованого бактеріофага у 30 дітей, хворих на гнійний риносинусит, отримали статистично вірогідні дані на користь покращення параметрів мукоциліарного кліренсу. Вченими були наведені запевнюючі факти (проспективне зменшення цукровинного часу (півгодини), відсутність тенденції до зростання останнього), що слугувало ґрунтовним аргументом на користь не лише етіологічної, але й патогенетичної складової механізмів впливу фагопрепаратів на слизову оболонку носа. Академічним прикладом конструювання препарату бактеріофагів для лікування палінологічних станів у хворих на ЛОР-патологію стали розробки науково-дослідного інституту ім. Л.А. Тарасевича. Першочергово ними була створена колекція бактеріальних культур, виділених з осередків запальних процесів (на прикладі 50 пацієнтів). Під час другого етапу виділяли 20 бактеріофагів, що належали різним джерелам та демонстрували наявність маркерів актуальних біологічних властивостей (вірулентність, широкий спектр літичної активності, високу урожайність, короткий латентний період інфекційного процесу, резистентність до агресивних фізико-хімічних факторів навколишнього середовища). Об'єм остаточного вибіркового арсеналу (n= 8) піддавали сучасному структурному аналізу (трансмисійна та скануюча електронна мікроскопія), що сприяло остаточному визначенню притаманих морфологічних відмінностей, зокрема і всередині гомологічних пар. Прикладний характер досліджень з визначення потенційних можливостей лікування компенсованого хронічного тонзиліту стафілококовим бактеріофагом підкреслили досліді на добровольцях (студенти медичних вишів). Відповідно до отриманих даних *S. aureus* спостерігали у 92,5% обстежених осіб. Висока чутливість (97,4%) культури золотистого стафілокока була встановлена до стафілококового бактеріофагу. Застосування до всіх добровольців з хронічним тонзилітом монофагової та комбінованої терапії сприяло клінічному поліпшенню та зменшенню ступеню висівання *S. aureus* зі слизової оболонки мигдаликів [17, 20, 21, 22].

На сьогодні помітно зростає чисельність робіт, що присвячені вивченню бактеріофагів, механізмів їхньої взаємодії з бактеріальною клітиною, у решті

решт, застосуванню фагів у медичній та суміжним їй галузям [23, 24]. Останньому великою мірою сприяв феномен секвенирування бактеріальних геномів, а разом із цим, чітке розуміння того, що переважна більшість бактерій є лізогенними хоча б за одним фагом. З іншого боку, - очевидною стала роль фагів у еволюційному становленні геномів хазяїна. За спостереженнями екологів, чисельність фагових часточок у ґрунті та воді на порядки перевищує їхню кількість у бактеріальних клітинах. Зазначене окреслило роль фагів у популяційній динаміці та еволюції бактерій, підтримці та реалізації природних біогеохімічних циклів (кругообіг вуглецю). Нещодавні геномні та транскриптомні дослідження довели високий рівень метаболічного зв'язку фагів та їхніх хазяїв. Дослідниками, у якості прикладів, наводяться факти наявності у бактеріофагів ціанобактерій ДНК, здатних до кодування ключових генів фотосинтезу [8, 20]. Отже, історія відкриття і дослідження бактеріофагів зосереджена у площині мікρο-біологічних та біотехнологічних дисциплін та містить низку нерозв'язаних проблем.

Висновки. Ретроспективний аналіз за тематикою розробки довів, що історія дослідження фагів, механізмів їхньої взаємодії з бактеріальною клітиною (лізис та лізогенія) сягає другої половини XIX віку та десятих років XX століття, коли у 1892 році В. Крузе та С. Пансині за умов вивчення росту пневмококу вперше був описаний спонтанний розчин бактеріальної культури; бактеріологом М. Ганкіним (1896) отримане об'єктивне підтвердження фактам бактерицидної дії води Джамни та Гангу на холерний вібріон та у 1898 році М. Ф. Гамалеею описаний лізис бактерій (бактеріоліз збудника сибірської виразки) під впливом перещеплюваного агента. Події, пов'язані із відкриттям англійським мікробіологом Фредеріком Уільямом Туортом (1915) та франко-канадійським дослідником Феліксом д'Ереллем (1917) вірусів, паразитуючих на бактеріях; введення у науковий ужиток терміну «бактеріофаг»; виділення із біологічних проб хворого на дизентерію фільтруючого ліричного агента, здатного до пасажів на відповідних культурах збудників та розчиняючого їхні клітини, знаменували завершення стартового історичного етапу дослідження бактеріофагів.

З 30-х по 50-ті роки XX століття тривала ера дослідження бактеріофагів (перший етап). Їй належав час великих та численних фундаментальних відкриттів у історії світової мікробіології: зародження та первинного становлення нової наукової дисципліни - молекулярної біології; з'ясування генетичної ролі ДНК, опосередкованості функцій РНК, розшифровки генетичного коду.

Друга ера бактеріофагів стартувала з початку 80-х - 90-х років минулого століття, коли фаги та отримані із них продукти стали впливати на розвиток

біотехнології. Отримали потужний імпульс добре відомі на тепер науковій спільноті світу технології рекомбінантних ДНК (бактеріофаги як первинні фактори або їхні структури).

Проведений авторами статті науково-теоретичний пошук та вивчення реферативного матеріалу продемонстрували досить вузький спектр даних відповідно освоєних прототипів (бактеріофаг, специфічність, абсолютний клітинний паразитизм, бактеріофагія, сучасність та історія відкриття та вивчення бактеріофагів). Публікації, відповідні контексту тематики, переважним чином містять фактичні матеріали щодо будови бактеріофагів, їхніх специфіки, життєвого циклу, характеристики даних, вірулентних/лізогенних фагів, інформації за питаннями застосування у медичній практиці.

Серед найбільш опрацьованих напрямків зауважимо на ті, де окреслені спроби вдосконалення фагопрепаратів з метою підвищення їхньої ефективності (сталого поповнення новими високоактивними штамми або расами фагів, отриманими з різних джерел). Відмітимо, що на сьогодні існує свідомий науковий інтерес стосовно питань, пов'язаних із використанням фагів, адаптованих до свіжовиділених культур збудників, циркулюючих на цей час у певній місцевості. Враховуючи накопичений науково-теоретичний та практичний досвід, що підтверджує очевидну ефективність фагів в сенсі застосування з метою детекції бактерій (проби біологічного матеріалу, продукти харчування, сировина), акцентуємо увагу на цілковитій актуальності та перспективності обраного авторським колективом вектору досліджень щодо розширення можливостей практичного використання бактеріофагів у медичній галузі.

Bacteriophages current statement of the problem and its historical interpretations

Torianyuk I. I., Kalinichenko S. V., Minukhin V. V., Melentyeva K. V., Moiseienko T. M., Ovetchyn P. V., Melnyk A. L.

Introduction. Bacteriophages - viruses of bacteria, are relatively simple biological system and is a convenient model for studying basic problem svirology, molecular biology and biotechnology. Significant success in learning mechanisms of nucleic acid replication, studies of fine structure genetic material, molecular mechanism of mutations, regulation protein synthesis and many other achievements of biology are connected with the application bacteriophages as convenient model objects. Phages, like all other viruses, are absolutely cellular parasites They carry information necessary for their own reproduction and at the same time, they do not have their own energy-synthesizing systems and protein-synthesizing mechanisms. Phages are the most numerous group of viruses on Earth. They can be found in all

possible niches occupied by their owners- bacteria. Bacterial viruses infect phytopathogenic bacteria, actinomycetes, blue-green algae, mycoplasmas. The genetic information of phages is encoded in its nucleic acid, the protein protects the genome from the action of external factors and performs a structural function, and also ensures the penetration of nucleic acid into a sensitive cell, is responsible for the antigenic and immunogenic properties of the virus. According to the above, the modern formulation of the problem of the use of bacteriophages in medical practice, the non-surface analysis of its historical roots seem timely. **The purpose:** is to perform an analysis of modern and retrospective (historical) data on the use of bacteriophages in the medical field (virology, in particular). **Materials and methods.** In order to objectify the informative annals and in-depth grounding of the work, we used the resources of retrospective analysis based on our own databases and previously accumulated thematic material. Prototypes were grounded using the resources of leading databases (Google, Yandex, etc.). **Results & Discussion.** Analysis of sources of scientific and practical and patent information showed that phages are more resistant to the action of physical and chemical environmental factors than many human viruses. Most of them are inactivated at a temperature above 65–70 °C, tolerate freezing well and are preserved for a long time at low temperatures and drying. Sulema, phenol do not have an inactivating effect on them. The resistance of bacteriophages to the effects of ionizing radiation and ultraviolet radiation has been revealed. Readers' attention is focused on the fact that the structure of bacteriophages was studied mostly on the example of phages of the T series of *Escherichia coli*. As a result, it was determined that the virus consists of an extended head containing DNA, a shell with a hollow core inside that resembles a stretched spring, and tail filaments. In addition, phages have a simpler structure - filamentous, in the form of crystals of icosahedral and octahedral forms. To date, there is no information on the mobility of bacteriophages. Literary sources testify in favor of the fact that the interaction of phages with the host cell begins as a result of an accidental encounter in the environment. It was also noted that the life cycle of bacteriophages that have entered the cell can take place in two ways that are significantly different from each other. Accordingly, virulent and lysogenic phages are distinguished. According to modern research, the development of virulent phages takes place in several stages. Phages are capable of species specificity. The specificity of the host and the phage is determined by the specificity of adsorption, which in turn depends on the receptors that are present in the cell wall of the host. According to the degree of specificity, polyphages are distinguished - capable of infecting several types of bacteria of the same genus, monophages - infecting bacteria of one species,

typical phages - infecting only a certain strain (type) of bacteria of the same species. The second, third and fourth stages of development consist in the implementation of such processes as injection with the introduction of phage nucleic acid into the cell; suspension of the synthesis of DNA, RNA and proteins of the host cell (latent period) and synthesis of phage molecules from destroyed host DNA. This is what researchers call a complex multi-stage process (maturation of T-phages) when capsids with proteins are first formed, then after their dissolution, DNA appears and the capsids are blocked. The last stage consists in the release of phages under the influence of lysozyme through the destroyed cell wall of bacteria (bacteriolysis). The released phages begin to infect other host cells. **Conclusion.** A retrospective search on the subject of the development proved that the history of the study of phages, the mechanisms of their interaction with the bacterial cell (lysis and lysogeny) dates back to the second half of the 19th century and the 10th years of the 20th century, when in 1892 V. Kruse and S. Pansini, under the conditions of studying the growth of pneumococci spontaneous bacterial culture solution was described for the first time; bacteriologist M. Hankin (1896) obtained objective confirmation of the bactericidal effect of the water of the Jamna and Ganges on cholera vibrio, and in 1898 M. F. Gamaleya described the lysis (bacteriolysis) of bacteria (the causative agent of anthrax) under the influence of a transplanted agent. Events associated with the discovery of viruses parasitizing bacteria by the English microbiologist F. Twort (1915) and the French-Canadian researcher F. d'Herelle (1917); introduction of the term "bacteriophage" into scientific use; the selection from the biological samples of a dysentery patient of a filtering lytic agent capable of passages on the appropriate cultures of pathogens and dissolving their cells marked the completion of the initial historical stage of bacteriophage research. The scientific-theoretical search and study of the reference material conducted by the authors of the article demonstrated a rather narrow range of data on the respectively mastered prototypes (bacteriophage, specificity, absolute cell parasitism, bacteriophagy, modernity and history of the discovery and study of bacteriophages). Publications corresponding to the context of the topic mainly contain factual materials on the structure of bacteriophages, their specificities, life cycle, characterization data, virulent / lysogenic phages, information on issues of application in medical practice. Among the most elaborated directions, we note those where attempts to improve phage preparations are outlined in order to increase their effectiveness (constant replenishment with new highly active strains or races of phages obtained from various sources). Note that today there is a conscious scientific interest in issues related to the use of phages adapted to freshly isolated cultures of pathogens circulating at that time in a certain area. Taking into account the

accumulated scientific, theoretical and practical experience, which confirms the obvious effectiveness of phages in the sense of application for the purpose of detecting bacteria (biological material samples, food products, raw materials), we emphasize the complete relevance and perspective of the vector of research chosen by the author's team.

Keywords: bacteriophage, specificity, absolute cell parasitism, bacteriophagy, modernity and history of the issue.

References:

1. A service of the U.S. National Institutes of Health... – URL: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00663091?term=bacteriophage&rank=2>.
2. A service of the U.S. National Institutes of Health.... – URL: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00937274?term=nestle+phage&rank=1>.
3. European Centre for Disease Prevention and Control – URL: http://www.Ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/0909_TER_The_Bacterial_Challenge_Time_to_React.pdf.
4. A service of the U.S. National Institutes of Health.... – URL: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00945087?term=bacteriophage+preparation&rank=1>.
5. Veiga-Crespo P., Barros-Velázquez J. et al. What can bacteriophages do for us? Communicating current research and educational topics and trends in applied microbiology. Ed.: A. Mendez-Vilas. Spain.Formatex. 2007. 2. 885–893.
6. U.S. Food and Drug Administration.... – URL: <http://www.fda.gov/Food/FoodIngredientsPackaging/GenerallyRecognizedasSafeGRAS/GRASListings/ucm154675.htm>.
7. World Health Organization website. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/ru>.
8. Boyko A. L. Bacteriophages. Encyclopedia of Modern Ukraine. Editors: I. M. Dzyuba, A. I. Zhukovsky, M. G. Zheleznyak at al. National Academy of Sciences of Ukraine, National Academy of Sciences. K. Institute of Encyclopedic Research of the National Academy of Sciences of Ukraine. 2003. <https://esu.com.ua/article-41088>.
9. Bacteriophages. Biology and practical use. Monograph. Cutter E. , SulakulidzeA. Scientific world. 2012. 640 s.
10. Bondarenko V.M. New Horizon Antibacteriophage Therapy. <http://cyberleninka.ru/article/n/novye-gorizonty-bakteriofagoterapii:2013>.
11. Study of anti-virus actions of metabolites of *Lactobacteria*/Kalinichenko S., Melent'eva K., Torianyk I., Manee H., Dubinina N. Zvereva N..*Wiadomosci Lekarskie*». 2020. LXXIII : 1420-1426. DOI: 10.36740/WLek202007132/.
12. Hayes U. Genetics of bacteria and bacteriophages. Fundamentals of genetics and molecular biology. Trans. from English 1965. 556 p.
13. Stent G. Molecular biology of bacterial viruses. Trans. English 1965. 410 p.
14. Adams M. H. Bacteriophages. Interscience Publishers. 1959. 592 p.
15. Angel Biotechnology. – URL: <http://www.angelbio.com/news.asp?id=151>.
16. European Center for Disease Prevention and Control. Operational considerations in the field of public health regarding the prevention and control of infectious diseases in the context of Russia's aggression against Ukraine (Operation alpublic health consideration s for the prevention and control of infectious diseases in the context of Russia's aggression towards Ukraine). March 8. 2022. Stockholm: ECPKZ
17. Krasilnikov I.V., Lysko K.A., Otrashesvskaya E.V. Bacteriophage based preparations: a brief survey of current state and future development. *Sib. Med. J.* 2011. 26 (2). 33-37.
18. Michael R. Barer, Will Irving, Andrew Swann, Nelun Perera. Medical microbiology: Handbook of microbial infections: pathogenesis, immunity, diagnosis. Volume 1. Publisher: Medicine. 2020. 448 p. ISBN: 9786175058053.
19. Great Medical Encyclopedia: in 35 volumes / 2nd ed. - M.: Soviet Encyclopedia, 1969-1978. Access mode: <https://coollib.com › 454435-kollektiv-avtorov-bolsha...>
20. Aloskin O.V. Experience in the use of therapeutic bacteriophages in purulent-inflammatory diseases of the ENT organs. *Medrada* 2015. 16.96-100.
21. Sakandelidze V.M. Complex use of specific phages and antibiotics in the case of various infectious allergies. *Medical case*. 1991.3.60-62.
22. Derkach S.A. Bacteriophages: topical issues of production of phages and assessment of their activity. *Infectious diseases*. 2022. 1 (107). 5-9.
23. Isayenko O.Yu., Kotsar O.V., Ryzhkova T.M., Babich E. M. Antimicrobial activity of structural-metabolic complexes of *L. Rhamnosus* G G and *S. boulardii* against *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853. *Zaporizhia Medical Journal*. 2020. 22(4). 139-145.
24. Isaenko O.Yu., Knysch O.V., Babich E.M., Zachepylo S.V. et al. Antimicrobial activity of metabolic products of *Saccharomyces boulardii* relative to test cultures of staphylococci and corynebacteria. *Pharmacology and medicinal toxicology*. 2017. 54 (3). 50-55.