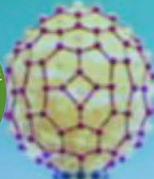




Учреждение образования  
«Международный государственный  
экологический институт  
имени А. Д. Сахарова»  
Белорусского государственного университета



# БАКТЕРИОФАГИ – ВИРУСЫ БАКТЕРИЙ



Учреждение образования  
«Международный государственный экологический  
институт имени А. Д. Сахарова»  
Белорусского государственного университета

---

Факультет экологической медицины  
Кафедра иммунологии

# **БАКТЕРИОФАГИ – ВИРУСЫ БАКТЕРИЙ**

Учебное пособие

Минск  
«ИВЦ Минфина»  
2017

УДК 578 (075.8)  
ББК 28.4 Я73  
Б 19

*Рекомендовано к изданию НМС МГЭУ им. А. Д. Сахарова  
(протокол № 7 от 16 марта 2015 года)*

**Автор-составитель:**

канд. биол. наук, доц. кафедры иммунологии МГЭУ им. А. Д. Сахарова,  
*Н. В. Иконникова*

**Рецензенты:**

канд. биол. наук, доц., доц. кафедры микробиологии биологического факультета  
Белорусского государственного университета *Р. А. Желдакова*;  
канд. биол. наук, доц., доц. кафедры биотехнологии и биоэкологии факультета  
технологии органических веществ Белорусского государственного  
технологического университета *Н. А. Белясова*

**Бактериофаги** – вирусы бактерий: учеб. пособие / авт.-  
Б19 сост. Н. В. Иконникова. – Минск: ИВЦ Минфина, 2017. – 41 с.

ISBN 978-985-7142-60-6.

Учебное пособие содержит теоретический материал по основам учения о вирусах бактерий. Рекомендовано для самостоятельной работы студентов при изучении дисциплин «Общая и медицинская микробиология с основами вирусологии» и «Общая и экологическая микробиология с основами вирусологии».

Предназначено для студентов III курса дневного отделения специальностей 1-80 02 01 «Медико-биологическое дело» и 1-33 01 05 «Медицинская экология», а также для IV курса заочного отделения специальности 1-33 01 05 «Медицинская экология».

**УДК 578 (075.8)**  
**ББК 28.4 Я73**

**ISBN 978-985-7142-60-6**

© Иконникова Н. В., 2017  
© МГЭИ им. А.Д. Сахарова БГУ, 2017

# СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	4
ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ УЧЕНИЯ О БАКТЕРИОФАГАХ .....	5
СТРОЕНИЕ БАКТЕРИОФАГОВ .....	7
ЖИЗНЕННЫЙ ЦИКЛ БАКТЕРИОФАГОВ.....	13
ЭКОЛОГИЯ БАКТЕРИОФАГОВ .....	22
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БАКТЕРИОФАГОВ В НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ .....	23
ПРИМЕНЕНИЕ БАКТЕРИОФАГОВ .....	26
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	31
СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ .....	38
МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ БАКТЕРИОФАГОВ .....	32
ЛИТЕРАТУРА.....	40

## ВВЕДЕНИЕ

Бактериофаги представляют собой вирусы, избирательно поражающие бактериальные клетки. История изучения бактериофагов включает почти полувековой опыт всесторонних исследований, выполненных в разных странах мира, что позволяет широко использовать их для решения многих задач в микробиологии, вирусологии, генетике, биохимии, иммунологии, радиобиологии и биотехнологии.

Антибактериальный эффект препаратов бактериофагов обусловлен внедрением генома фага в бактериальную клетку с последующим его размножением и лизисом инфицированной клетки. Вышедшие во внешнюю среду в результате лизиса бактериофаги повторно инфицируют и лизируют другие бактериальные клетки, действуя до полного уничтожения патогенных бактерий в очаге воспаления. С медицинской точки зрения препараты бактериофагов обладают такими несомненными и неоспоримыми преимуществами, как высокая специфичность их действия в отношении штаммов-хозяев, отсутствие токсичности, неспособность вызывать дисбактериозы и аллергические реакции. Бактериофаги могут применяться как самостоятельное лекарственное средство, так и вместе с антибиотиками и иммунопрепаратами.

Поэтому учение о вирусах бактерий, развивающееся вначале как узкая область медицинской и ветеринарной микробиологии, в настоящее время приобретает общебиологическое значение. Однако, несмотря на накопленный большой научный материал по изучению биологических свойств бактериофагов, многие вопросы требуют дополнительных исследований. Например, у большинства глубоко изученных модельных фагов Т-серии, так и не удалось выяснить функцию многих синтезируемых ими продуктов. До сих пор нет единой схемы таксономии и морфологической классификации этих микроорганизмов, отсутствуют стандартные наборы бактериофагов многих возбудителей заболеваний животных и человека, а также схемы и регламенты их применения.

## ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ УЧЕНИЯ О БАКТЕРИОФАГАХ

Открытие вирусов бактерий было подготовлено развитием микробиологии в конце XIX в. Идеи Л. Пастера о бактериальной этиологии инфекций, разработанные в 80-х годах методы культивирования бактерий на плотных и жидких питательных средах, утверждение в микробиологии идей мономорфизма – все это способствовало изучению морфологических и физиологических особенностей бактерий. Среди других феноменов роста бактерий было описано явление их спонтанного лизиса.

Впервые спонтанное растворение бактериальной культуры было обнаружено в 1892 г. В. Крузе и С. Пансини при изучении роста пневмококка. Спустя четыре года русский бактериолог М. Ганкин (1896) сообщил о бактерицидном действии воды Джамны и Ганга в Индии на холерный вибрион. Автор обнаружил сохранение бактерицидных свойств воды этих рек после ее пропускания через бактериальный фильтр. Лизис бактерий (возбудителя сибирской язвы) под влиянием переживаемого агента описал в 1898 г. Н. Ф. Гамалея, назвавший это явление бактериолизом.

Открытие вирусов, паразитирующих на бактериях, принадлежит английскому микробиологу Фредерику Уильяму Туорту и франко-канадскому исследователю Феликсу д'Эреллю. Английский бактериолог Фредерик Туорт в статье 1915 года описал инфекционную болезнь стафилококков, инфицирующий агент проходил через фильтры, и его можно было переносить от одной колонии к другой.

Независимо от Ф. Туорта микробиолог Феликс д'Эрелль 3 сентября 1917 года сообщил об открытии бактериофагов, ввел термин «бактериофаг». После открытия явлений бактериофагии д'Эрелль развил учение о том, что бактериофаги патогенных бактерий, являясь их паразитами, играют большую роль в патогенезе инфекций, обеспечивая выздоровление больного организма, а затем создания специфического иммунитета. Идея о паразитарной природе фага, о возможности его применения для лечения и профилактики инфекционных болезней привлекла к бактериофагу внимание микробиологов всего мира.

Наряду с исследованиями, направленными на практическое использование бактериофага, проводились работы по выяснению его природы. Особенно упорно изучал свойства бактериофага Ф. д'Эрелль. Он описал два способа определения числа частиц бактериофага: путем лизиса бульонных культур бактерий при внесении прогрессивно уменьшающихся концентраций бактериофага, вплоть до разведения лизата, когда вносятся единичные частицы фага («конечное разведение»), и по числу образуемых «стерильных» пятен при посеве разведения лизата на бактериальный

газон на плотной питательной среде (метод «стерильных» пятен). Этот второй метод в модификации А. Грациа широко применяется и сейчас. Изучая взаимодействие бактериофага и бактерий, д'Эрелль отметил ряд этапов в этом процессе: прикрепление фага к поверхности клетки, внедрение его внутрь клетки и размножение в ней, завершающееся лизисом клетки и выходом из нее 15–25 частиц бактериофага. Ему удалось наблюдать в темном поле микроскопа лизис бактериальной клетки и появление 15–25 мельчайших «блестящих» точек. Число их точно соответствовало количеству стерильных пятен, образуемых при высеве лизата на бактериальный газон. На основании этого д'Эрелль сделал верный вывод, что эти «блестящие» точки являются частицами бактериофага. Он привел также ряд других доказательств корпускулярности бактериофага: способность его проходить через бактериальные фильтры определенной пористости, осаждение в жидкости при длительном стоянии и др. д'Эрелль отметил изменчивость бактериофага (объясняя это способностью фага к адаптации), а также автономность антигенного состава фага. Однако, д'Эрелль считал, что существует только один вид бактериофага – *Bacteriophag umintestinale*, являющийся внутриклеточным паразитом бактерий.

Первая эра исследования бактериофагов продолжалась с 30-х по 50-е гг. XX в. и привела к большому количеству фундаментальных открытий, таких как доказательство генетической роли ДНК, расшифровка генетического кода и открытие посреднической роли РНК. Все эти достижения привели к рождению прогрессивной научной дисциплины – молекулярной биологии.

Вторая эра наступила в 80–90-е гг. прошлого века, когда фаги и полученные из них продукты оказали важнейшее влияние на развитие биотехнологий. Технология рекомбинантной ДНК, например, была разработана на основе бактериофагов как первичных векторов или частей векторов (промоторы для экспрессионных векторов, упаковочные сигналы для космид и фагмид, сигналы встройки для интеграционных векторов, репликоны для фагмид и т. д.). Более того, бактериофаги стали источником открытия и получения большого количества ферментов, включая интегразы, ДНК-лигазы, ДНК-полимеразы, РНК-полимеразы, рекомбиназы, белки, связывающие одноцепочечную ДНК (SSB), эндо- и экзонуклеазы, метилазы и эндонуклеазы рестрикции, которые сейчас используются в каждой молекулярно-биологической лаборатории.

Интерес к бактериофагам не был постоянно на высоком уровне. В 70-е гг. начался спад публикационной активности, связанной с этим биологическим объектом, из-за недостатка финансирования и переключения исследователей на более перспективное изучение эукариотических систем.

В настоящее время возросло число исследований бактериофагов и их практического использования. Есть несколько причин такого подъема. Во-первых, в результате секвенирования бактериальных геномов было выяснено, что большинство бактерий являются лизогенными хотя бы по одному фагу, а также что фаги сыграли важнейшую роль в эволюции генома хозяина. Во-вторых, экологи обнаружили, что количество фаговых частиц в почве и воде в десятки, сотни раз превышает их количество в бактериальных клетках. Таким образом, признана роль фагов во влиянии на популяционную динамику и эволюцию бактерий, а также в поддержании природных биогеохимических циклов, таких как круговорот углерода. Более того, недавние геномные и транскриптомные исследования продемонстрировали высокую степень метаболической взаимосвязи фагов и их хозяев. Например, бактериофаги цианобактерий имеют ДНК, кодирующую, кроме всего прочего, ключевой ген фотосинтеза. В-третьих, фаги являются достойной альтернативой антибиотикам, ко многим из которых у болезнетворных бактерий все чаще обнаруживается устойчивость, а химическое разнообразие антибиотиков давно исчерпано.

## СТРОЕНИЕ БАКТЕРИОФАГОВ

**Бактериофаги** (фаг, от греч. phagos – пожирающий) – группа вирусов, паразитирующих на бактериях. Бактериофаги широко распространены в природе и обнаруживаются в воде, почве, сточных водах, организме человека и животных, а также в культурах бактерий.

Бактериофаги различаются по химической структуре, типу нуклеиновой кислоты, строению фаговой частицы, морфологии негативных колоний, характеру взаимодействия с микробной клеткой.

Для обозначения бактериофагов используют буквы латинского и греческого алфавитов, например, к хорошо изученным фагам кишечной палочки относятся фаги  $\lambda$ ,  $\phi$ X174, fd, f2, R17, T2.

Как и все вирусы, во внеклеточной форме бактериофаги представляют собой метаболически инертные частицы. Большинство из них имеют хорошо сформированную икосаэдрическую головку и хвост различной выраженности иногда с дополнительными структурами, опосредующими адсорбцию фага на бактериальной клетке (рис. 1). Типичная фаговая частица (вирион) состоит из головки и отростка (хвоста). Размеры фагов достигают 20–200 нм. Средний диаметр головки составляет 60–100 нм, длина отростка 100–200 нм.

Длина хвоста обычно в 2–4 раза больше диаметра головки. В головке содержится генетический материал – одноцепочечная или двуцепочеч-

ная РНК или ДНК с ферментом транскриптазой в неактивном состоянии, окружённая белковой оболочкой – капсидом. Нуклеиновая кислота и капсид вместе составляют нуклеокапсид. Хвост, или отросток, представляет собой белковую трубку – продолжение белковой оболочки головки, в основании хвоста имеется АТФ-аза, которая регенерирует энергию для инъекции генетического материала. Отросток имеет вид полый трубки, окружённой чехлом, содержащим сократительные белки. У ряда вирусов чехол способен сокращаться, обнажая часть стержня. На конце отростка у многих бактериофагов имеется базальная пластинка, от которой отходят тонкие длинные нити, способствующие прикреплению фага к бактерии (рис. 1).

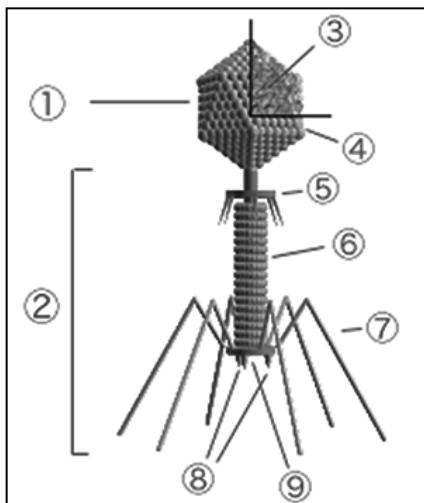


Рис. 1. Строение фаговой частицы (на примере Т-четного бактериофага): 1 – головка, 2 – хвост, 3 – нуклеиновая кислота, 4 – капсид, 5 – «воротничок», 6 – белковый сократительный чехол вокруг полого стержня хвоста, 7 – фибриллы (нити) хвостового отростка, 8 – шипы, 9 – базальная пластинка

Наиболее изучены Т-фаги (англ. *type* – типовые). Они составляют Т-группу коли-дизентерийных фагов, включающую 7 представителей: 4 нечетных Т1, Т3, Т5 и Т7 и 3 четных Т2, Т4, Т6.

Классические, так называемые «хвостатые» фаги, составляют основную массу бактериофагов (96 %). Применение современных электронных микроскопов, а также усовершенствование методов приготовления препаратов для электронной микроскопии позволили более детально изучить тонкую структуру фагов. Оказалось, что она весьма разнообразна и у многих фагов более сложна, чем структура вирусов рас-

чений и ряда вирусов человека и животных. В настоящее время существует большое количество фагов с морфологией, отличной от классической (рис. 2, 3; табл. 1). Фаги отличаются друг от друга по форме, величине, сложности организации, по химическому составу вирусной частицы. Известно, что фаги, лизирующие микроорганизмы различных групп, могут быть идентичными по своей морфологии. В то же время фаги, активные против одной и той же культуры бактерий, могут резко различаться по своей структуре. Так, среди фагов, способных лизировать разные штаммы кишечной палочки, выявлены все известные морфологические типы фагов.

По форме вирусных частиц фаги делятся на шесть основных морфологических типов (групп) (рис. 2, табл. 1).

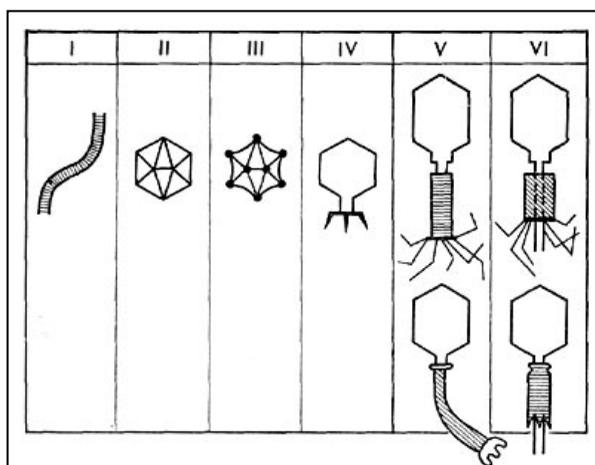
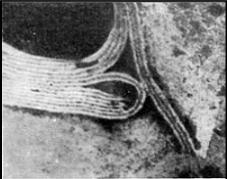
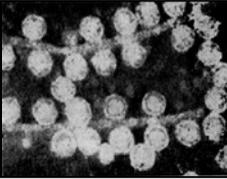
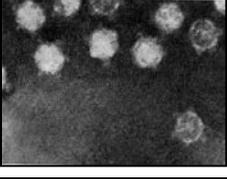
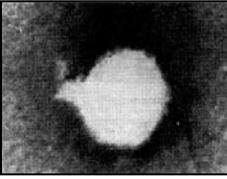
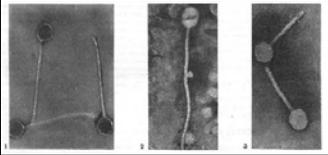
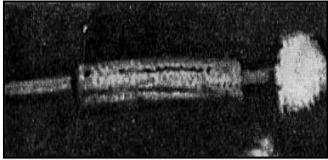


Рис. 2. Морфологические типы (группы) бактериофагов

Разнообразие геномов бактериофагов весьма велико: объемы геномов колеблются от 20 до почти 700 kb, хотя длина большинства фаговых геномов составляет около 50 kb. Самый крупный представитель – бактериофаг G. Его геном длиной в 670 kb является одним из лидеров среди всех вирусных геномов, превышая в 4 раза самый маленький бактериальный геном.

Таблица 1 – Характеристика основных морфологических групп бактериофагов

Тип	Форма, строение вириона	Снимок, электронная микроскопия, увеличение X 400 000–600 000.
<b>I</b>	Палочковидная или нитевидная	
<b>II</b>	Головка без отростка	
<b>III</b>	Головка+несколько небольших выступов (отростков)	
<b>IV</b>	Головка+один короткий отросток	
<b>V</b>	Головка+длинный отросток, чехол которого не может сокращаться	
<b>VI</b>	Головка+длинный отросток, чехол которого способен сокращаться	

Большинство изученных фагов имеют двухцепочечную ДНК ( $\lambda$ , T4, Mu, P-фаги и др.), но существуют группы фагов с одноцепочечной ДНК ( $\phi$ X174, нитчатые бактериофаги), двух- и одноцепочечной РНК ( $\phi$ 6, MS2).

Бактериофаги, как и другие вирусы, состоят из нуклеиновой кислоты и белка. Общее количество белка в частице фага составляет 50–60%, нуклеиновых кислот – 40–50%. В химическом составе некоторых фагов обнаружены ДНК с необычными азотистыми основаниями. У фага T2 вместо цитозина содержится 5-оксиметилцитозин, внутри головки фага обнаружен белок, в состав которого входят полиамины (спермин, путресцин). Этот белок играет определенную роль в суперспирализации фаговой ДНК, что способствует ее размещению в сравнительно небольшой головке. В частицах многих фагов под чехлом дистальной части отростка содержится фермент лизоцим.

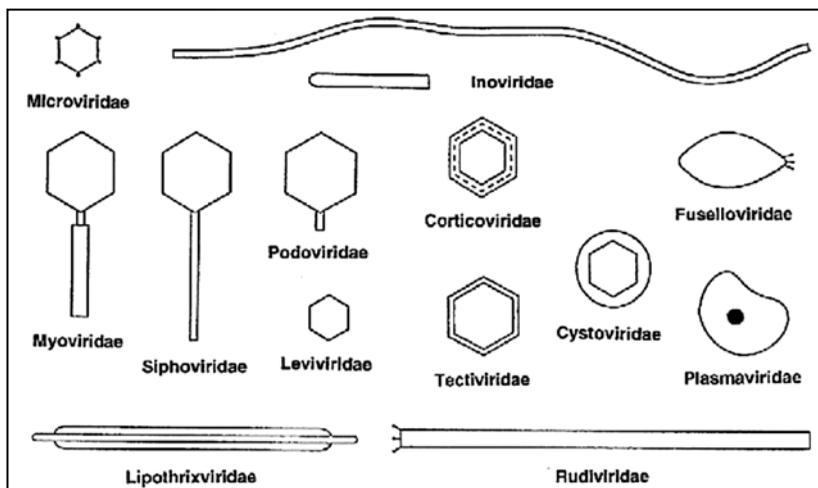


Рис. 3. Морфология представителей различных семейств бактериофагов

Встречаются представители, геном которых сегментирован, но в основном геномы представлены целыми линейными или кольцевыми молекулами нуклеиновых кислот. Современная классификация вирусов бактерий основывается на строении фаговой частицы и характеристике нуклеиновой кислоты. Согласно Международной классификации и номенклатуре вирусов в настоящее время выделяют 13 семейств наиболее исследованных бактериофагов (табл. 2, рис. 3).

Таблица 2– Классификация вирусов бактерий и архей

Порядок	Семейство	Морфология фаговой частицы	Нуклеиновая кислота	Пример бактериофага
<i>Caudovirales</i>	<i>Myoviridae</i>	Без оболочки, сократительный хвост	Линейная дцДНК	ФарТ4, Мюфаг, PBSX, P1Puna-like, P2, I3, Всер 1, Всер 43, Всер 78
	<i>Siphoviridae</i>	Без оболочки, не сократительный хвост (длинный)	Линейная дцДНК	λ фаг, Фар Т5, phi, C2, L5, НК97, N15
	<i>Podoviridae</i>	Без оболочки, не сократительный хвост (короткий)	Линейная дцДНК	Фар Т7, Фар Т3, P22, P37
<i>Ligamenvirales</i>	<i>Lipothrixviridae</i>	В оболочке, палочкообразные	Линейная дцДНК	Вирус «Acidianusfilamentous» 1
	<i>Rudiviridae</i>	Без оболочки, палочкообразные	Линейная дцДНК	Палочкообразный вирус «Sulfolobusislandicus» 1
Неизвестен	<i>Ampullaviridae</i>	В оболочке, бутылкообразные	Линейная дцДНК	
	<i>Bicaudaviridae</i>	Без оболочки, лемонообразные	Кольцевая дцДНК	
	<i>Clavaviridae</i>	Без оболочки, палочкообразные	Кольцевая дцДНК	
	<i>Corticoviridae</i>	Без оболочки, изометрические	Кольцевая дцДНК	
	<i>Cystoviridae</i>	В оболочке, сферические	Сегментированная оцРНК	
	<i>Fuselloviridae</i>	Без оболочки, лемонообразные	Кольцевая дцДНК	
	<i>Globuloviridae</i>	В оболочке, изометрические	Линейная дцДНК	
	<i>Guttaviridae</i>	Без оболочки, яйцевидные	Кольцевая дцДНК	
	<i>Inoviridae</i>	Без оболочки, нитевидные	Кольцевая оцДНК	
	<i>Leviviridae</i>	Без оболочки, изометрические	Линейная оцРНК	MS2, Qβ
	<i>Microviridae</i>	Без оболочки, изометрические	Кольцевая оцДНК	ΦX174
	<i>Plasmaviridae</i>	В оболочке, плеоморфные	Кольцевая дцДНК	
<i>Tectiviridae</i>	Без оболочки, изометрические	Линейная дцДНК		

Примечание: дц – двухцепочечная молекула нуклеиновой кислоты, оц – одноцепочечная молекула нуклеиновой кислоты.

Фаги более устойчивы к действию физических и химических факторов окружающей среды, чем многие вирусы человека. Большинство из них инактивируются при температуре свыше 65–70 °С, хорошо переносят замораживание и длительно сохраняются при низких температурах и высушивании. Сулема (0,5 % раствор), фенол (1,0 % раствор) не оказывают на них инактивирующего действия. В то же время, 1,0 % раствор формалина инактивирует фаговые частицы в течение нескольких минут. Выявлена резистентность бактериофагов к воздействиям ионизирующей радиации и УФ-излучения.

## ЖИЗНЕННЫЙ ЦИКЛ БАКТЕРИОФАГОВ

Важным свойством бактериофагов является их специфичность: бактериофаги, как правило, лизируют бактерии определенного вида. Взаимоотношения между фагом и чувствительной к нему клеткой сложны и не всегда завершаются лизисом клетки и размножением в ней фага. В зависимости от специфичности различают **моновалентные фаги**, лизирующие культуры бактерий определенного вида, **типовые фаги**, лизирующие отдельные штаммы внутри вида, и **поливалентные фаги**, способные вызывать лизис группы родственных видов микроорганизмов. Инфекция клетки, которая заканчивается гибелью клетки и размножением в ней фага называется **продуктивной**. Важнейшая особенность фага в том, что его размножение может происходить только в живых клетках, находящихся в стадии роста и развития. В мертвых клетках, а также продуктах клеточного обмена размножение фага не происходит.

По характеру взаимодействия с микробной клеткой различают **вирулентные** и **умеренные** бактериофаги.

Время с момента инфицирования клетки фагом до лизиса клетки называется латентным периодом. Первая половина латентного периода, во время которой еще не удастся обнаружить в зараженной клетке инфекционный фаг, называется **скрытым периодом**. Каждая система фаг – бактерия в стандартных условиях проведения опыта характеризуется определенными величинами латентного и скрытого периодов. Продолжительность этого периода различна для разных типов фага, зависит от окружающей температуры, состава среды и других факторов. Латентный период фагов может составлять от 15–40 мин. до 5 ч и более. У фагов актиномицетов латентный период может быть еще продолжительнее. При низкой температуре латентный период значительно увеличивается.

Бактериофаг может развиваться по двум моделям: **лизогенный** и **литический** путь. Умеренные и вирулентные бактериофаги на началь-

ных этапах взаимодействия с бактериальной клеткой имеют одинаковый цикл развития. Вирулентные бактериофаги развиваются по **литической** модели, которая включает следующие стадии (рис. 4):

- **Адсорбция бактериофага на фагоспецифических рецепторах клетки.** Адсорбция фагов на клеточной поверхности бактерий происходит при помощи специфических рецепторов, которые располагаются на кончике нити, шипа или хвостика. В свою очередь, на клеточной стенке бактерии располагаются ее фагоспецифические рецепторы, распознаваемые фагом. Рецепторы для одних фагов находятся в липопротеидном слое клеточной стенки, для других – в липополисахаридном слое. Для ряда фагов рецепторы находятся на жгутиках или пилях. Адсорбция фага – пусковой момент его жизненного цикла. Она очень специфична и поэтому обуславливает возможность практического использования фагов, например, для идентификации бактерий, а также для лечебных и профилактических целей.

Пластинка с шипами прикрепляется к стенке, содержащийся в них лизоцим вызывает в месте контакта лизис клеточной стенки. Одновременно ионы кальция активируют содержащуюся в белках чехла АТФ-азу, и чехол сокращается. Его длина уменьшается в 2 раза, количество витков также уменьшается в 2 раза. В результате сокращения чехла внутренний стержень прокалывает клеточную стенку в участке, разрушенном лизоцимом, и цитоплазматическую мембрану.

- **Инъекция фаговой нуклеиновой кислоты в клетку хозяина.** Внедрение фаговой ДНК в клетку происходит с помощью следующим образом: около 10 % ее активно впрыскивается во время сокращения чехла хвоста; остальная часть фаговой ДНК втягивается в цитоплазму бактерий благодаря процессам транскрипции и работе трансляционного аппарата. Белки капсида остаются снаружи клеточной стенки.

- **Совместная репликация фаговой и бактериальной нуклеиновой кислоты.** Нуклеиновая кислота фага направляет синтез ферментов фага, используя для этого белоксинтезирующий аппарат бактерии. Фаг тем или иным способом инактивирует ДНК и РНК хозяина, а ферменты фага совсем расщепляют её; РНК фага «подчиняет» себе клеточный аппарат синтеза белка. Репликация фаговой геномной ДНК или РНК протекает в соответствии с общим механизмом репликации. Степень зависимости репликации ДНК фага от хромосомы клетки определяется набором генов у фагов. Крупные фаги (фаг Т4), осуществляют репликацию полностью автономно; средние – частично нуждаются в помощи бактериальных генов, а мелкие (фаг М13) почти полностью зависят от хромосомных генов. После начала репликации начинается синтез поздних вирусных

информационных РНК. В результате образуется второй набор вирусспецифических белков, в том числе субъединицы вирусного капсида.

- **Сборка вновь синтезированных вирионов – заключение фаговой нуклеиновой кислоты в белковую оболочку (морфогенез фагов).** У мелких фагов морфогенез протекает по типу самосборки. У фага Т4 этот процесс требует активности более 40 генов и происходит при участии трех самостоятельных линий. На одной происходит сборка хвоста (участие 20 генов), на другой – головки фага (около 16 генов), на третьей – сборка ворсин (5 генов). Соединение хвоста с головкой не требует участия генов, но оно не может произойти до тех пор, пока и хвостовой отросток, и головка не будут смонтированы полностью. Точно так и ворсины могут присоединиться к хвосту только после его полного соединения с головкой. Благодаря строгому генетическому контролю со стороны фага обеспечивается последовательность и согласованность всех процессов его внутриклеточного размножения.

- **Лизис клетки.** Клетка лопаается под воздействием лизоцима; высвобождается около 200–1000 новых фаговых частиц; фаги инфицируют другие бактерии. Выход вновь синтезированных фагов из клетки происходит:

- 1) путем почкования (M13 – единственный фаг, не вызывающий при выходе из клетки ее гибели);

- 2) путем лизиса клетки изнутри. Осуществляется лизоцимом и вызывает гибель клетки. Лизоцим синтезируется как поздний вирусспецифический белок. Он воздействует на пептидогликановый слой стенки бактериальной клетки, в результате стенка разрывается, фаговое потомство выходит из клетки. Иногда происходит лизис бактерий извне, как следствие адсорбции многих фагов на одной клетке, но при этом размножения фагов не происходит. Обычно же после внедрения фагового генома в клетку у нее возникает состояние иммунитета к суперинфекции данным фагом, т.е. проникновение других фаговых геномов становится невозможным.

Умеренные бактериофаги после деления клетки находятся в состоянии **профага** (лизогенный путь). **Лизогения** – это способность бактериальной культуры в бесчисленном ряду поколений нести в своем составе фаг в особой неинфекционной форме – **профаг**. В форме профага вирус не патогенен для клетки, сохраняя, однако, потенциальную способность стать вирулентным при переходе в зрелый (активный) фаг. Профаг находится в клетке либо в интегрированном с бактериальной хромосомой состоянии (например,  $\lambda$ , P22), либо в виде цитоплазматической частицы, в частности, профаги P1 и N15 локализуются в цитоплазме

ме клетки хозяина, образуя самостоятельный репликон, подобно плазмидам бактерий.

Бактерии, в составе клеток которых есть профаг, называются **лизогенными**. Лизогенные бактерии могут лизироваться и высвободить зрелый фаг (либо спонтанно, либо при воздействии индуцирующими факторами: УФ-излучение, ионизирующее излучение, обработка некоторыми кислотами, перекисями, антибиотиками и др.). Наиболее эффективные и широко применяемые индуцирующие агенты – УФ-лучи и антибиотик митомицин С.

**Лизогенизация** – это процесс перехода бактериальной клетки в лизогенное состояние, обусловленный инфицированием умеренным фагом.

Умеренные фаги играют важную роль в обмене генетическим материалом между бактериями. Этот процесс получил название трансдукции. Различают общую (генерализованную или неспецифическую) и специфическую трансдукцию.

**Общая трансдукция.** Механизм ее заключается в том, что в процессе внутриклеточного размножения фага в его головку может быть случайно включен вместо фаговой ДНК фрагмент бактериальной ДНК, равный по длине фаговой. Таким образом, в процессе репродукции фага возникают дефектные вирионы, у которых в головках вместо собственной геномной ДНК содержится фрагмент ДНК бактерии. Такие фаги сохраняют инфекционные свойства. Они адсорбируются на бактериальной клетке, вводят в нее ДНК, содержащуюся в головке, но при этом размножения фага не происходит. Введенная в клетку реципиента донорная ДНК, если она содержит гены, отсутствующие у реципиента, наделяет его новым признаком. Этот признак будет зависеть от того, какой ген (гены) попал в головку трансдуцирующего фага. В случае рекомбинации привнесенного фагом фрагмента ДНК донора с хромосомой клетки-реципиента этот признак наследственно закрепляется.

**Специфическая трансдукция** отличается от неспецифической тем, что в этом случае трансдуцирующие фаги всегда переносят только определенные гены. Специфическая трансдукция всегда связана с интеграцией умеренного фага в хромосому клетки-хозяина. При выходе (исключении) из хромосомы профаг может захватить ген с левого или правого фланга, но в этом случае он должен лишиться такого же размера своей ДНК с противоположного конца, чтобы ее общая длина оставалась неизменной (иначе она не может быть упакована в головку фага). Поэтому при такой форме исключения образуются дефектные фаги.

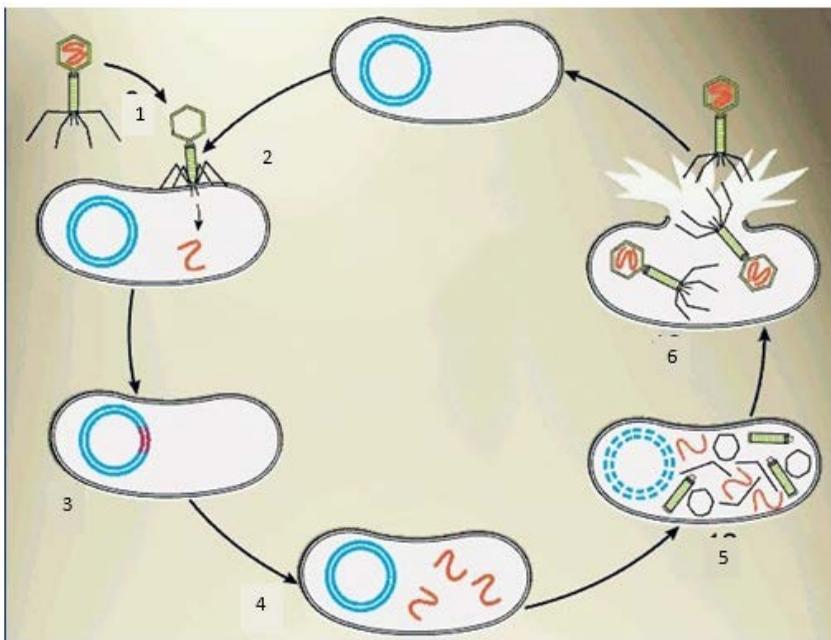


Рис. 4. Принципиальная схема жизненного цикла бактериофага: 1 – адсорбция фага на клетке; 2 – проникновение вирусной нуклеиновой кислоты в клетку; 3 – интеграция фаговой ДНК в хромосому бактерий; 4 – репликация фаговой ДНК; 5 – синтез вирусных белков, образование капсидов, упаковка ДНК в капсиды, созревание фаговых частиц; 6 – лизис клетки и выход фаговых частиц

Достаточно хорошо исследованным является процесс адсорбции фаговой частицы на клетке. Адсорбция фага на клетке – реакция строго специфична. На рецепторах в клеточной стенке бактерий адсорбируются (прикрепляются) только те фаги, к которым чувствительна клетка. Фаги, имеющие отростки, прикрепляются к клеточной стенке свободным концом отростка. Нитевидные фаги, а также фаги, не имеющие отростков, адсорбируются на нитевидных структурах клетки – фимбриях и пиях. Существуют фаги, которые прикрепляются отростком к бактериальным жгутикам. У некоторых фагов процесс адсорбции может осуществляться лишь в том случае, когда в среде имеются определенные вещества – кофакторы (аминокислоты – триптофан, тирозин или соли Ca, Mg). На конце фагового отростка имеется особый фермент типа лизоцима. После адсорбции фага под влиянием этого фермента происходит растворение стенки микробной клетки и содержимое головки фага (нуклеиновая кислота) переходит в клетку бактерии. Остальные структуры фаговой частицы (оболочка головки, отросток и его суб-

структуры) внутрь инфицированной фагом клетки не попадают. Их роль заключается в обеспечении сохранности фаговой частицы, находящейся вне клетки, и содействии проникновению фаговой нуклеиновой кислоты в клетку при инфекции. У нитевидных фагов внутрь клетки кроме молекулы нуклеиновой кислоты проникает частично или полностью белковая составляющая фага.

Абсолютное большинство фагов вызывает лизис клетки и ее гибель. Если произвести рассев по поверхности агаризованной питательной среды в чашках Петри смеси фага и чувствительных к нему микроорганизмов с последующим термостатированием, то происходит лизис клеток в результате репродукции фага. При большом количестве частиц фага лизируется большая часть или весь выросший газон культуры. Если количество фаговых частиц таково, что они распределяются только на отдельных участках газона, лизируя в этих местах культуру, то образуются округлые прозрачные участки, называемые **стерильными пятнами, фаговыми бляшками** или **негативными колониями фага**, которые хорошо визуализируются при просмотре чашек в проходящем свете.

Сформировавшаяся негативная колония содержит  $10^6$  –  $10^9$  фаговых частиц.

Размер и форма негативных колоний являются важной характеристикой фага, например, у дизентерийных бактериофагов негативные колонии имеют звездчатую форму. По величине негативные колонии подразделяются на крупные (до 10 мм в диаметре и более), средние, мелкие и точечные. Диаметр образующихся колоний пропорционален скорости репродукции фага, скорости освобождения фаговых частиц из клеток и их адсорбции на поверхности неинфицированных бактериальных клеток и может быть пропорционален размеру фаговых частиц, который определяет скорость их диффузии в агаре. Следовательно, крупные фаги образуют мелкие негативные колонии, фаги с небольшим размером вирусной частицы – крупные негативные колонии. Морфология негативной колонии относится к признакам, чрезвычайно специфичным для данного фага, иногда для группы родственных фагов. Фаговые бляшки могут быть прозрачными (когда лизировалась вся культура) или выглядеть мутными. Мутные бляшки обычно образуют умеренные бактериофаги, поскольку большинство бактериальных клеток внутри бляшки остаются лизогенными. Стерильное пятно может быть окружено одной или несколькими зонами неполного лизиса, имеющими вид окружностей различной ширины. Иногда негативные колонии опалесцируют, что обусловлено рассеянием света большим количеством фаговых частиц в негативной колонии. Негативные колонии, образуемые бактериофагами, прекращают увеличиваться в размере че-

рез сутки, поскольку фаги способны репродуцироваться только в активно делящихся клетках бактерий.

На рис. 5 представлены негативные колонии различных фагов.

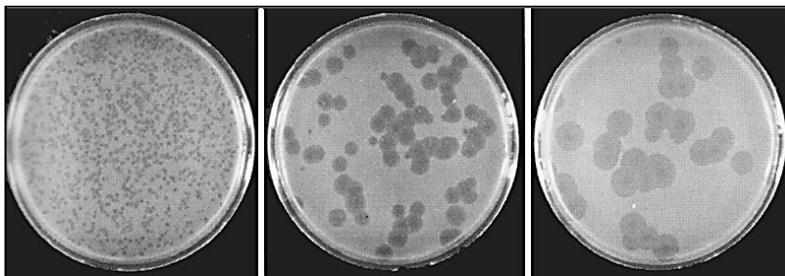


Рис. 5. Негативные колонии бактериофагов

Важной характеристикой взаимодействия фага с клеткой бактерии является **выход (урожай) фага** – среднее количество новых частиц бактериофага, освобождаемых клеткой в момент лизиса. Можно также рассчитать **средний выход фага** – отношение общего количества бляшкообразующих единиц фага к числу первоначально зараженных бактерий. Выход фага зависит от свойств данного фага и не зависит от клетки-хозяина и ее размеров. Одни фаги отличаются очень низким выходом (5–50 частиц на клетку), у других выход значительно выше (от 1000 до 2500). Особенно высоким выходом отличаются мелкие РНК-овые фаги (свыше 20 000 частиц на клетку). Если большое количество бактериальных клеток смешать с небольшим количеством фаговых частиц, то процесс размножения фагов проходит несколько циклов. Вначале инфицируется часть клеток. Первое потомство фага инфицирует оставшиеся клетки – происходит второй цикл, за ним может следовать третий и т.д., пока не будут лизированы все чувствительные к данному фагу клетки.

**Фаг  $\lambda$**  является типичным представителем хвостатых фагов семейства *Siphoviridae*. Вирион состоит из головки с двухцепочечной линейной ДНК внутри и хвоста с нитями, опосредующими адсорбцию фага на поверхности клетки *E. coli*. В большинстве случаев после попадания фаговой ДНК в клетку запускается литический цикл, в результате которого происходит наработка новых вирионов и лизис клетки. При некоторых условиях фаговая ДНК может встроиться в геном хозяина и передаваться его потомству с каждым новым делением. За такую форму жизни отвечают фаговые белки-репрессоры, которые подавляют экспрессию остальных фаговых генов. Когда клетка попадает в стрессовые

условия, такие как истощение питательной среды, отравление антибиотиками, облучение, белки-репрессоры разрушаются, профаг высщепляется из хромосомы хозяйской клетки и запускается литический цикл.

Фаг  $\lambda$  оказал огромное влияние на развитие молекулярной генетики. После открытия в 1950 г. Э. Ледерберг он стал модельным объектом и очень удобным инструментом в руках генных инженеров. На его основе создано огромное количество векторов для клонирования, его сайтспецифичная рекомбиназа и Red-оперон используются в генной инженерии для создания векторов (например, ВАС).

**Фаг T4** является типичным представителем хвостатых фагов семейства *Mycoviridae*, хвост которых заключен в сократительный чехол, а внутри экосаэдрической головки свернута линейная двухцепочечная ДНК. Механизм инфицирования *E. coli* фагом T4 представляется как классический: после адсорбции на клетке хвостовые нити подтягивают базальную пластину к её поверхности, белок, одним из доменов которого является лизоцим, взаимодействует с клеточной стенкой, растворяя её, чехол сокращается и ДНК фага впрыскивается в клетку бактерии. T4 характеризуется взрывным литическим циклом, длящимся примерно 30 минут. После инфицирования происходит арест экспрессии генов хозяина, весь синтетический аппарат переключается на синтез фаговых ферментов, репликацию фага и формирование новых вирионов. При накоплении в клетке около 300 фаговых частиц происходит её разрушение и фаги выходят в окружающую среду. T4 обладает некоторыми уникальными свойствами. Например, его гены содержат сходные с эукариотическими интроны. При высокой скорости репликации совершается всего 1 ошибка на 300 копий из-за работы специальных механизмов репарации ДНК. Геном T4 содержит терминальные повторы, позволяющие образовывать конкатамерные структуры, которые нарезаются при упаковке новых вирионов. Поскольку капсид вмещает в себя ДНК большей длины, чем геном, то в результате упаковки возникает явление пермутации (циклической перестановки) генов и избыточных концевых последовательностей. Это объясняет тот факт, что генетическая карта T4 кольцевая, хотя геном линейный. Фаг T4 является поистине выдающимся объектом, сыгравшим огромную роль в становлении и развитии молекулярной биологии. При работе с T-чётными фагами были доказаны такие фундаментальные свойства генетического кода, как триплетность, вырожденность, наличие знаков репинания между генами и отсутствие внутри, а также была доказана генетическая роль ДНК.

**Фаг M13** является умеренным нитчатый фагом, в белковую оболочку которого заключена кольцевая одноцепочечная ДНК. M13 инфици-

цирует клетки, имеющие F-пили, и при адсорбции на них препятствует конъюгации между бактериями. Инфицированные клетки не разрушаются, но практически прекращают делиться. К фаговой +ДНК, попавшей в клетку, бактериальными ферментами достраивается комплементарная цепь, в результате чего образуется двухцепочечная репликативная форма. Затем с помощью фаговых ферментов (белкар II) запускается репликация +цепи по модели катящегося колеса. Получившаяся кольцевая одноцепочечная ДНК либо достраивается до репликативной формы, либо упаковывается в вирион. Высвобождение новых частиц происходит через поры в клеточной стенке, образованные специальными белками фага.

Каждый вид и штамм бактерии характеризуется индивидуальным набором молекул на своей поверхности, и каждая из них потенциально может быть рецептором для связывания фага. Механизм инфицирования различен для разных типов фагов, но для всех из них оно приводит в результате к доставке фагового генома в цитоплазму бактериальной клетки, где он взаимодействует с её синтезирующим аппаратом, и запускается жизненный цикл фага. Это приводит к различным последствиям для клетки. Литические фаги, такие как T4 для *E. coli*, попадая в клетку, полностью переключают все её ресурсы на производство новых фаговых частиц, которые после скорого разрушения клетки высвобождаются в окружающую среду. Длительная коэволюция системы фаг-бактерия привела к возникновению форм фагов, не лизирующих хозяйские клетки, что обеспечивает более эффективное сохранение и распространение вида. Такая стратегия реализуется разными фагами по-разному. Некоторые умеренные фаги (например,  $\lambda$ ) при попадании в клетку переходят в лизогенную форму, т. е. встраиваются в геном и вместе с генетической информацией хозяина передаются последующим поколениям. При попадании бактерии, содержащей профаг (культуры таких бактерий называются лизогенными), в определенные условия происходит выщепление фаговой ДНК из хромосомы, репликация и созревание потомства, разрушение клетки с высвобождением новых фаговых частиц. Нитчатые фаги, инфицируя клетку, приводят к замедлению её развития и размножения. Фаговые белки формируют в клеточной стенке бактерий поры, через которые в окружающую среду выходят новые частицы. Таким образом, в любом случае в результате взаимодействия фагов и их хозяев количество фаговых частиц увеличивается.

## ЭКОЛОГИЯ БАКТЕРИОФАГОВ

Бактериофаги представляют собой наиболее многочисленную, широко распространённую в биосфере и, предположительно, наиболее эволюционно древнюю группу вирусов. Приблизительный размер популяции фагов составляет более  $10^{30}$  фаговых частиц, считается, что на одну бактерию приходится 10 фаговых частиц.

В природных условиях фаги встречаются в тех местах, где есть чувствительные к ним бактерии. Чем богаче тот или иной субстрат (почва, выделения человека и животных, вода и т. д.) микроорганизмами, тем в большем количестве в нём встречаются соответствующие фаги. Особенно богаты фагами чернозёмы и почвы, в которые вносились органические удобрения.

Бактериофаги выполняют важную роль в контроле численности микробных популяций, в автолизе стареющих клеток, в переносе бактериальных генов, выступая в качестве векторных «систем». Действительно, бактериофаги представляют собой один из основных подвижных генетических элементов. Посредством трансдукции они привносят в бактериальный геном новые гены. Установлено, что за секунду могут быть инфицированы  $10^{24}$  бактерий. Это означает, что постоянный перенос генетического материала распределяется между бактериями, обитающими в сходных условиях.

Высокий уровень специализации, долгосрочное существование, способность быстро репродуцироваться в соответствующем хозяине способствует их сохранению в динамичном балансе среди широкого разнообразия видов бактерий в любой природной экосистеме. Когда подходящий хозяин отсутствует, многие фаги могут сохранять способность к инфицированию на протяжении десятилетий, если не будут уничтожены экстремальными веществами либо условиями внешней среды.

Поскольку фаги представляют собой, грубо говоря, надмолекулярные комплексы, первый уровень организации жизни, в котором рассматривается экология фагов, – организменный уровень, фактически являющийся одновременно и молекулярным (понятно, что клеточный уровень не включен из-за неклеточной формы жизни вирусов). Данный раздел экологии фагов исследует анатомию фаговых частиц, стабильность вирионов, особенности адсорбции, подробности всех периодов

жизненного цикла, устойчивость к рестрикции и прекращению инфекции, свойства умеренных фагов (частота перехода к лизогении и обратно), адаптации, позволяющие сменить хозяина, – словом, все то, чем можно охарактеризовать отдельную фаговую частицу.

Популяционная экология занимается рассмотрением группы фагов одного вида, взаимодействий внутри этой группы (конкуренция вне клетки за возможность инфицирования, внутри клетки – за ограниченные ресурсы), её свойств (темпы роста и плотность, разница роста в жидкой и твердой среде) и поведения (выбор лизогении или активной репликации, высокий или низкий уровень размножения). Бактерии в данном случае являются пищевым ресурсом.

С точки зрения биоценотического уровня организации жизни система бактерия-фаг рассматривается в рамках модели «хозяин-паразит». Соответственно, коэволюция этих двух элементов приводит к возникновению сложных отношений. Изучается воздействие фагов на плотность популяции бактерий и наоборот, развитие устойчивости хозяина, расширение круга хозяев, трансдукция и конверсия фагов. Также с этого уровня рассматривается взаимодействие фагов разных видов между собой и влияние фагов на многоклеточные организмы. Так, некоторые фаги имеют гены экзотоксинов, разрушающие клетки животных, а фаготерапия, по сути, есть практическое применение знаний биоценотической экологии фагов.

Наконец, фаги играют большую роль в поддержании функционирования биогеоценозов (уровень, описывающий равновесные процессы между живой и неживой природой) благодаря способности разрушать бактерии, которые как деструкторы находятся на самом низком трофическом уровне. Под действием экзотоксинов, кодируемых фаговыми генами, происходит также разрушение тканей животных. Таким образом, высвобождаются простые химические соединения и энергия. Эти процессы главным образом составляют часть круговорота углерода, особенно в контексте так называемой микробной петли.

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БАКТЕРИОФАГОВ В НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ**

На основе ДНК бактериофагов сконструированы несколько типов молекулярных векторов.

**Векторы внедрения** имеют в своем составе один сайт встраивания фрагмента чужеродной ДНК. **Векторы замещения** имеют два или более мест встраивания экзогенных фрагментов ДНК за счет замещения фрагментов векторной фаговой ДНК. **Космиды** – это плазмидные векторы, в которые встроены участки генома фага  $\lambda$  (cos-сайт), обеспечивающий возможность упаковки этой молекулы ДНК в фаговую частицу *in vitro*. Созданы клонирующие векторы на основе геномов нитевидных фагов (M13, fd, f1). **Фазмиды** – это молекулярные векторы, которые являются искусственными гибридами между фагом и плазмидой. В их составе обнаруживаются фрагменты ДНК бактериофага  $\lambda$ , содержащие все гены, необходимые для литической инфекции, а также плазмидная ДНК. Гены репликации как фага, так и плазмиды в фазмидах сохранены. Перед инфекцией клеток бактерий фазмидные ДНК упаковываются *in vitro* в капсидные белки фага  $\lambda$ . Попадая в клетки, фазмида реплицируется с использованием областей фага  $\lambda$ , в результате чего на газоне чувствительных бактерий образуются негативные колонии. Если же присутствует ген, кодирующий синтез репрессора фага  $\lambda$ , то фазмида реплицируется как плазида. Кроме того, если ген-репрессор кодирует дефектный белок cI, инактивирующийся при повышенной температуре (температуро-чувствительный репрессор), то фазмида реплицируется как плазида при низкой температуре или как бактериофаг при повышенной.

Благодаря высокой специфичности бактериофагов их используют для типирования бактерий во время вспышек эпидемиологических, эпизоотических и нозокомиальных инфекций. Для этого созданы стандартные наборы фагов, к которым чувствительны те или иные штаммы микроорганизмов, и разработаны схемы типирования. Существует большое количество других методов идентификации штаммов, основанных на различии в морфологии, биохимических свойств, вирулентности, антигенных характеристик, геномов, чувствительности к химическим веществам (включая антибиотики) и ферментам, плазмидном профиле. Фаготипирование – быстрая, экономически выгодная, надежная и воспроизводимая технология, не требующая специального оборудования. На практике ею пользуются для идентификации различных штаммов *Bacillus*, *Burkholderia*, *Campylobacter*, *Clostridium difficile*, *Corynebacterium*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Listeria*, *Mycobacterium*, *Pasteurella*,

*Proteus, Pseudomonas, Salmonella, Serratia, Shigella, Staphylococcus, Streptococcus, Vibrio, Yersinia* и многих других.

Литические бактериофаги продуцируют лизины – пептидогликановые гидролазы, в природе являющиеся одними из самых эффективных бактериолитических агентов. Из-за различий в строении клеточной стенки грамотрицательных и грамположительных бактерий различаются и лизины их фагов: для лизиса пептидогликанового слоя первых достаточно одного каталитического домена, тогда как для лизиса сложно устроенной клеточной стенки необходимы также домены, обеспечивающие связывание с ней. Таким образом, лизины могут быть эффективными терапевтическими агентами, характеризующимися специфичностью к большому количеству грамположительных культур, к которым относится большинство бактериальных патогенов.

На основе бактериофагов создано большое количество пептидных библиотек, позволяющих выполнять различные исследовательские работы, такие как изучение белок-белковых взаимодействий, специфичности ферментов и механизмов их действия, картирование эпитопов и идентификация последовательностей, имитирующих конформационные структуры (не только белковые, но и углеводные, и липидные), а также являющихся агонистами и антагонистами лигандов различных рецепторов. Пептиды в таких библиотеках представлены как части оболочечных белков, которые выдаются в окружающую среду и соответственно способны взаимодействовать с интересующим исследователя объектом. Поскольку фаговые белки не имеют тропности к тканям млекопитающих, такое взаимодействие обеспечивается чужеродными пептидами. Такие фаги можно отобрать и идентифицировать последовательность встройки. Данная методика носит название «фаговый дисплей». Пептидные встройки могут представлять собой случайные аминокислотные последовательности определенной длины или являться фрагментами какого-то определенного белка или антитела. Кроме линейных, полипептидные встройки могут быть представлены последовательностями, циклизированными за счет образования дисульфидного мостика между цистеинами, расположенными по краям встройки. Библиотеки с такими пептидами используются так же широко. Технология фагового дисплея проста и надежна, чем заслужила признание исследователей во всем мире.

## ПРИМЕНЕНИЕ БАКТЕРИОФАГОВ

- Для идентификации микроорганизмов, в том числе и для диагностики инфекционных заболеваний (в *фагодиагностике* – методе косвенной диагностики инфекционных заболеваний, заключающемся в выделении специфического фага из организма больного).
- Для выявления бактериального загрязнения (в *фагоиндикации*, когда присутствие фага рассматривают как косвенный показатель загрязненности исследуемого материала).
- Для профилактики некоторых инфекционных заболеваний (в *фагопрофилактике* – методе предупреждения некоторых кишечных инфекционных заболеваний (бактериальной дизентерии, холеры, сальмонеллеза и др.) с помощью препаратов бактериофагов).
- Для лечения некоторых инфекционных болезней (в *фаготерапии* – методе лечения некоторых инфекций с помощью препаратов бактериофагов).

Фагодиагностику бактерий осуществляют путем постановки пробы на фаголизис в жидкой или плотной питательной среде. Методы фагодиагностики используют главным образом при работе с возбудителями кишечных и особо опасных инфекций (дизентерии, брюшного тифа, сальмонеллез, холеры, сибирской язвы, бруцеллеза).

Колифаги являются адекватными индикаторами загрязнения воды коли-бактериями, на которых они паразитируют, а также другими кишечными вирусами, поскольку и колифаги и кишечные вирусы имеют общий источник поступления в окружающую среду. Показатель наличия колифагов можно использовать для оценки эффективности процессов очистки воды от вирусного загрязнения. С 1999 г. новый СанПиН РБ по качеству питьевой воды регламентирует ее контроль на присутствие колифагов, в случае обнаружения которых проводятся исследования воды на энтеровирусы.

В хирургии фаги стали применять с 1921 г. и отмечали их эффективность при раннем введении, с редкими побочными реакциями. Помимо орального введения фаги наносили на место поражения, применяли в аэрозолях. Но затем из-за успешного применения антибиотиков, особенно при тяжелых осложнениях, бактериофаги стали использоваться все реже и реже. С 1980–1990 гг. XX в. интерес к бактериофагам начал возрождаться в результате широкого распространения антибио-

тикорезистентных штаммов. Развитие резистентности к антибиотикам госпитальных штаммов микроорганизмов значительно опережает создание новых препаратов, которое требует вложения громадных средств и длительного времени. В хирургических стационарах и трансплантологических клиниках эта проблема приобретает наиболее острое значение как из-за многочисленных инвазивных манипуляций и устройств, тяжелых высокотехнологичных операций, так и из-за контингента пациентов с иммунодефицитными состояниями.

Бактериофаги широко применялись для лечения различных заболеваний с 20-х гг. XX в. во многих странах мира. В России и странах СНГ препараты бактериофагов производятся с 40-х гг. и применяют для профилактики и лечения:

- инфекционных поражений желудочно-кишечного тракта (дизентерия, брюшной тиф, сальмонеллез, дисбактериоз);

- гнойно-воспалительных заболеваний глаз, ушей, носа, ротовой полости, горла, легких (отит, ангина, фарингит, стоматит, пародонтит, конъюнктивит, гайморит, пневмония);

- хирургических инфекций (обработка послеоперационных и гноящихся ран, гнойные поражения кожи, перитонит);

- ожоговых ран;

- урогенитальных инфекций (цистит, пиелонефрит, вульвит).

Препараты бактериофагов выпускают в виде таблеток, мазей, аэрозолей, свечей и суспензий. Традиционной формой выпуска является жидкий препарат. Употребляют препараты для орошения полостей, смазывания раневых поверхностей, вводя перорально, внутривенно и т. п. Широкое применение нашли следующие лечебно-профилактические культуры бактериофагов: стафилококковый, стрептококковый, дизентерийный, брюшнотифозный, сальмонеллезный, колифаг, протейный, синегнойный; для снижения частоты бактериальных осложнений у больных используется также пиобактериофаг; имеются комбинированные препараты, используемые при кишечных инфекциях, инфекциях стрептококковой и стафилококковой этиологии, ожогах и травмах, осложненных гнойным воспалением и др. (табл. 3).

Для лечения заболеваний вирусно-бактериальной этиологии создан комплексный биологический препарат «Интерфаг», содержащий интерферон и бактериофаги.

Таблица 3 – Виды препаратов бактериофагов и спектр их антибактериальной активности

Наименование препарата	Спектр антибактериальной активности
Бактериофаг стафилококковый	<i>Staphylococcus aureus</i> и другие стафилококки
Бактериофаг стрептококковый	<i>Streptococcus</i> ; <i>Enterococcus</i>
Клебсифаг	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Бактериофаг синегнойный	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Бактериофаг сальмонелезный ABCDE	<i>Salmonella serogroup A, B, C, D, E.</i>
Бактериофаг колипротейный	<i>Escherichia coli</i> ; <i>Proteus vulgaris</i> ; <i>Proteus mirabilis.</i>
Бактериофаг дизентерийный поливалентный	<i>Shigella sonnae</i> ; <i>Shigella flexneri</i> 1,2,3,4,6 serotypes,
Пиобактериофаг (Секстафаг)	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Proteus vulgaris</i> ; <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli.</i>
Интести-бактериофаг	<i>Shigella sonnae</i> , <i>Shigella flexneri</i> 1,2,3,4,6, <i>Salmonella serogroup A, B, C, D, E</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterococcus.</i>

Препараты бактериофагов используются в клинической практике наряду с антибиотиками. Известно, что во многих случаях фаговые препараты превосходят другие антибактериальные препараты по активности в отношении антибиотикорезистентных возбудителей. Бактериофаги не вызывают побочных токсических и аллергических реакций и не имеют противопоказаний (табл. 4).

Таблица 4 – Сравнительная характеристика препаратов бактериофагов и антибиотиков

Признак сравнения	Антибиотики	Бактериофаги
Частота развития вторичной резистентности	От незначительной до очень высокой	Не характерно
Профилактическое использование	Неэффективно, противопоказано	Эффективно, широко используется

ризнак сравнения	Антибиотики	Бактериофаги
Длительность создания нового препарата	От нескольких лет до десятилетий	От нескольких дней до нескольких месяцев
Концентрация в инфекционном очаге	Отличается для разных препаратов, зависит от локализации процесса, различна и скорость снижения концентрации	Нарастает путем саморазмножения, снижается после ликвидации инфекции
Влияние на ферментные системы организма	Характерно для всех препаратов	Не выявлено
Наличие побочных эффектов и осложнений	Аллергические, токсические, конкурентные (в отношении прочих медикаментов), дисбиотические изменения различных органов.	Не характерно. Редко – аллергические реакции (при массовом разрушении микроорганизмов). Дисбиотических нарушений не вызывают, но используются для их коррекции
Совместимость с лекарственными препаратами	Различная, (обусловлена конкуренцией за ферментные системы, связывание с тканями, усиление токсических эффектов и др.)	Полная (в том числе и с антибиотиками)
Активность в отношении патогенных микроорганизмов	Различная. Подавляют облигатную флору организма, вызывая дисбиотические нарушения. Число чувствительных штаммов составляет 60–90 %	Число чувствительных штаммов составляет 70–90 %. Не влияют на облигатную микрофлору организма, не вызывают дисбиоз

Использование препаратов бактериофагов стимулирует активизацию факторов специфического и неспецифического иммунитета, поэтому фаготерапия особенно эффективна при лечении хронических воспалительных заболеваний на фоне иммунодепрессивных состояний. Бактериофаги не препятствуют реализации лечебного действия других препаратов (антибиотики, пробиотики, синбиотики) и не чувствительны к их воздействию. Показательны в своей эффективности результаты сочетания фаготерапии

и антибиотикотерапии при ассоциированных инфекциях, вызванных полирезистентными штаммами *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*.

Таким образом, препараты бактериофагов выгодно отличаются от антибиотиков по ряду существенных свойств:

- бактериофаги высоко специфичны при лечении инфекций, не подавляют нормальную микрофлору и не нарушают естественный баланс внутренней среды организма, т. е. фаготерапия является специфической;

- бактериофаги не имеют противопоказаний к применению: их можно назначать беременным, кормящим матерям и детям любого возраста, включая недоношенных;

- бактериофаги могут использоваться не только для лечения, но и для профилактики бактериальных инфекций;

- бактериофаги не вызывают развития резистентности у микроорганизмов;

- бактериофаги оказывают стимулирующее влияние на гуморальное и клеточное звенья иммунитета;

- бактериофаги не обладают токсическим, аллергическим и тератогенным эффектами, что особенно важно для лиц с аллергией к антибиотикам.

- бактериофаги эффективны в монотерапии, но также могут применяться в комбинации с другими препаратами, в т.ч. с антибиотиками и пробиотиками.

Несмотря на то, что фаготерапия имеет достаточно высокую клиническую эффективность при лечении больных с бактериальными инфекциями (80–95 %), особенно вызванными антибиотико-резистентными штаммами микроорганизмов, она длительный период времени не получала широкого применения в международной клинической практике.

Возрождение интереса к бактериофагам и фаготерапевтическим мероприятиям наблюдается в 2000-е годы последнего десятилетия в разных странах мира, что связано с возникновением множественной лекарственной устойчивости бактериальных штаммов вследствие многолетнего применения антибиотиков для лечения различных заболеваний. В 2009 г. в Стокгольме на конференции «Инновационные задачи в области эффективности антибактериальных препаратов» и в Москве, в рамках круглого стола «Эра антибиотиков заканчивается: альтернативные возможности в антибактериальной терапии» приведены неоспоримые факты о последствиях антибиотикотерапии:

- от инфекций, вызванных бактериями, имеющими множественную лекарственную устойчивость, умирает ежегодно более 25 000 пациентов (только в странах ЕС);

- возникновение антибиотикорезистентных форм микроорганизмов влечет невосполнимый ущерб экономике развитых стран;
- разработка нового препарата антибиотика, его клинические испытания и регистрация требуют значительных капиталовложений и занимают долгие годы.

Бактериофаги, открытые в прошлом веке, призваны создать достойную альтернативу антибиотикам в терапии множества заболеваний бактериального происхождения, обладая следующими преимуществами:

- бактериофаги самостоятельно контролируют свое воспроизведение, размножаясь только при наличии чувствительной культуры;
- бактериофаги обладают гораздо более высокой специфичностью, чем антибиотики, что приводит к наименьшему повреждению нормальной микрофлоры организма и, следовательно, к снижению риска заболевания вторичными микробными инфекциями, сопровождающими дисбактериозы;
- бактериофаги могут снижать вирулентность даже резистентных к ним штаммов за счет использования в качестве мишени для адсорбции рецепторов, участвующих в патогенезе бактерии;
- отсутствие выраженных побочных эффектов при фаготерапии;
- фаготерапия может применяться к беременным и кормящим женщинам, младенцам, у лиц с аллергией к антибиотикам;
- бактериофаги можно использовать в профилактических целях: предотвращение инфицирования при контакте с микробами, санация медицинских учреждений, борьба с внутрибольничными инфекциями.
- препараты на основе бактериофагов просты в производстве, которое может быть налажено локально и удовлетворять потребностям конкретной местности;
- фаговые препараты можно использовать в сочетании с антибиотиками, что уменьшает вероятность развития резистентности бактерий;
- препараты местного применения на основе бактериофагов способны проникать глубоко в ткани и размножаться в месте локализации инфекции.

# МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ БАКТЕРИОФАГОВ

## 1. Получение препаратов бактериофагов

1. Проводят заражение бульонной культуры бактерий соответствующим бактериальным вирусом. Фаги лизируют бактерии, потомство выходит в питательную среду.

2. Лизированную фагом культуру фильтруют.

3. Фильтрат (прозрачная жидкость, содержащая бактериофаг) проверяют на стерильность, безвредность, активность.

4. Определяют активность препарата путем титрования. Титром бактериофага называют максимальное разведение, при котором данный фаг способен вызвать лизис гомологичной бактериальной культуры.

5. Проводят консервацию препарата 0,01 % раствором хинозола или 0,25 % раствором фенола.

## 2. Определение литической активности бактериофага по методу Аппельмана

Метод Аппельмана – метод определения литической активности бактериофага на жидких средах путем установления его максимального разведения, вызывающего полный лизис бульонной культуры бактерий.

В ряд стерильных пробирок наливают по 4,5 мл питательной среды (мясо-пептонный бульон). В первую пробирку ряда вносят 0,5 мл испытуемого фага, который в дальнейшем последовательно разводят, перенося из пробирки в пробирку по 0,5 мл (каждый раз отдельной стерильной градуированной пипеткой). Обычно готовят 10 разведений фага. Из последней (10-й) пробирки лишние 0,5 мл выливают. Затем во все пробирки вносят 1–2 капли 18-часовой бульонной культуры бактерий. В качестве контроля служат дополнительные пробирки – 11 и 12; в одной из них находится жидкая питательная среда и культура (без фага), в другой – питательная среда (контроль стерильности). Все пробирки инкубируют в термостате при  $t^{\circ} 37^{\circ}$  в течение 18 ч. Литическую активность фага, выраженную в титре, устанавливают по последней пробирке, в которой отсутствует мутность или осадок. При учете результатов опыта пробирки следует встряхнуть. Титр бактериофага, по Аппельману, выражается максимальным разведением фага, при котором произошел полный лизис соответствующей культуры: например, титр бактериофага, давшего лизис в первых 7 пробирках ряда, равен  $10^7$ .

Данные, полученные титрованием по Аппельману, характеризуют лишь литическую активность фага. Концентрация фаговых частиц определяется титрованием фага на твердых питательных средах.

### 3. Определение титра бактериофага по методу Грация

**Титр бактериофага** – это количество активных фаговых частиц в единице объема исследуемого материала. Для определения титра бактериофага наиболее широко в практике работы с бактериофагами применяется метод агаровых слоев, предложенный А. Грация в 1936 г. Этот метод отличается простотой выполнения и точностью получаемых результатов и с успехом используется также и для выделения бактериофагов.

Сущность метода состоит в том, что суспензию бактериофага смешивают с культурой чувствительных бактерий, вносят в агар низкой концентрации («мягкий агар») и наслаивают на поверхность ранее подготовленного 1,5 % питательного агара в чашке Петри. В качестве верхнего слоя в классическом методе Грация использовался водный («голодный») 0,6 % агар. В настоящее время для этих целей чаще всего применяют 0,7 % питательный агар. При инкубации в течение 6–18 ч бактерии размножаются внутри верхнего «мягкого» слоя агара в виде множества колоний, получая питание из нижнего слоя 1,5 % питательного агара, который применяется в качестве подложки. Низкая концентрация агара в верхнем слое создает пониженную вязкость, что способствует хорошей диффузии фаговых частиц и инфицированию ими бактериальных клеток. Инфицированные бактерии подвергаются лизису, в результате чего появляется потомство фага, которое вновь заражает находящиеся в непосредственной близости с ними бактерии. Образование негативной колонии для фагов Т-группы вызвано только одной частицей бактериофага и, следовательно, число негативных колоний служит количественным показателем содержания бляшкообразующих единиц в исследуемом образце.

Культура чувствительных к фагу бактерий используется в логарифмической фазе роста в минимальном количестве, обеспечивающем получение сплошного газона бактерий. Соотношение числа фаговых частиц к числу бактериальных клеток (*множественность инфекции*) для каждой системы фаг-бактерия подбирается экспериментально с таким расчетом, чтобы на одной чашке образовывалось 50–100 негативных колоний.

Для титрования бактериофага может быть использован также однослойный метод, который состоит в том, что на поверхность чашки с питательным агаром вносят суспензию бактерий и суспензию бактериофага и смесь распределяют стеклянным шпателем. Однако этот метод уступает в точности методу агаровых слоев и поэтому не нашел широкого ведения исходной фаговой суспензии в буферном растворе либо в бульоне (шаг разведения –  $10^{-1}$ ). Для каждого разведения используют отдельную пипетку, а смесь интенсивно перемешивают. Из суспензии каждого разведения делают «высев» фага на газон чувствительных бактерий *E. coli*.

Для этого 1 мл разведенного фага вносят в пробирку с 3 мл расплавленного и охлажденного до 48–50 °С «мягкого агара». Затем в каждую пробирку добавляют 0,1 мл культуры чувствительного микроорганизма (*E. coli*), находящегося в логарифмической фазе роста. Содержимое пробирки перемешивают, вращая пробирку между ладонями, избегая образования пузырей, и быстро выливают на поверхность агаризованной (1,5 %) питательной среды в чашке Петри и равномерно распределяют по ней, осторожно покачивая чашку. При титровании методом агаровых слоев следует засеять параллельно не менее двух чашек одного и того же разведения фага. После застывания верхнего слоя чашки переворачивают крышками вниз и помещают в термостат при температуре, оптимальной для развития чувствительных бактерий. Учет результатов производят через 18–20 часов инкубирования. Количество негативных колоний подсчитывают аналогично подсчету колоний бактерий, а титр фага определяют по формуле:

$$N = \frac{n \times D}{V},$$

где N – количество фаговых частиц в 1 мл исследуемого материала,

n – среднее количество негативных колоний на чашку,

D – номер разведения,

V – объем высеваемой пробы, мл.

#### 4. Определение спектра литического действия бактериофага

Спектр литического действия фага – это способность бактериофага заражать и вызывать лизис определенного круга бактерий. По наличию бактериофагов, например, в воде, можно косвенно судить о присутствии в ней тех или иных бактерий, которые являются для них хозяевами. Определение спектра литического действия используют при эпидемиологическом анализе вспышек инфекционных заболеваний. Исследование спектра литического действия фага может быть полезно при определении пути попадания данного фага на производство, а также при выборе способов придания клеткам признака фагоустойчивости.

**Метод 1.** На поверхность 1,5 % агаризованной питательной среды в чашке Петри пипеткой наносят каплю исследуемого фага. Чашку поворачивают вертикально, чтобы капля могла стечь на противоположную сторону, и выдерживают в горизонтальном положении до полного впитывания суспензии фага. Затем на поверхность чашки перпендикулярно к впитавшейся суспензии фага производят засев стерильной бактериальной петлей культур различных штаммов исследуемых бактерий. Чашки помещают в термостат на 18–20 часов при оптимальной для развития бактерий температуре. Чувствительность к бактериофагу проявляется в виде

зон лизиса бактериальной культуры в местах контакта с бактериофагом или появлением отдельных негативных колоний.

**Метод 2.** Чашку с агаризованной питательной средой делят на квадранты по числу испытуемых бактериальных культур. На каждый квадрант петлей наносят каплю соответствующей бульонной культуры и распределяют ее по агару в пределах данного квадрата. Затем на каждый засеянный квадрант петлей или пипеткой наносят по одной капле испытуемого фага. После суточной инкубации в термостате просматривают чашку, отмечая те квадранты, где имеется сплошной лизис бактерий или так называемые стерильные пятна на бактериальном газоне. Количество различных бактериальных культур, которые лизируются испытуемым фагом (например: 42, 47 и т.д.), определяет широту спектра его литического действия (рис. 6).

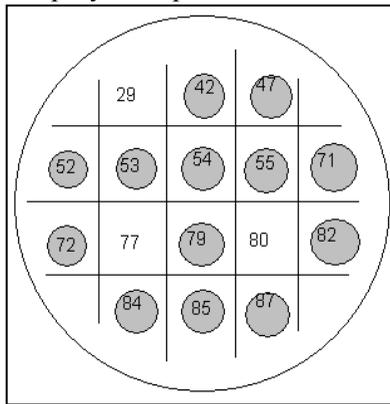


Рис. 6. Схема постановки опыта по определению спектра литического действия бактериофага (цифры обозначают культуры бактерий)

## 5. Определение фаготипа бактерий

Фаготипирование – метод типирования бактерий, основанный на избирательной чувствительности определенных штаммов или серотипов бактерий внутри одного и того же вида к высокоспецифичным фагам.

Учитывая, что взаимодействие бактерий и бактериофагов высокоспецифично, чувствительность бактерий к тем или иным фагам может служить признаком, пригодным для их идентификации. Бактерии одного вида, различающиеся по набору рецепторов для строго специфических бактериофагов, разделяют на фаготипы (фаговары). Наборы типовых бактериофагов применяют при массовых эпидемиологических исследованиях, позволяющих выявить источник инфекции и пути передачи возбудителя и его хозяина и установить связь между источником инфекции и отдельными случаями заболеваний. В медицинской практике фаготи-

пирование используется при стафилококковой, брюшнотифозной инфекциях, паратифе В и др. Созданы коллекции фагов, специально предназначенные для типирования возбудителей заболеваний (например, *Staphylococcus aureus*). Исследуемую культуру бактерий засевают шпателем на поверхность 1,5 % агаризованной питательной среды в чашки Петри для получения газона сплошного роста. Поверхность дна чашки делят на квадранты (перманентным маркером по стеклу). На произведенный посев пипеткой наносят по капле различных типоспецифических фагов. Капли подсушивают и чашки помещают в термостат. После инкубации в течение суток просматривают чашку, отмечая те квадранты, в которых появились стерильные пятна в месте нанесения фагов (зоны лизиса бактерий). Фаготип бактериальной культуры определяется тем типом фага, который вызвал лизис (рис. 7).

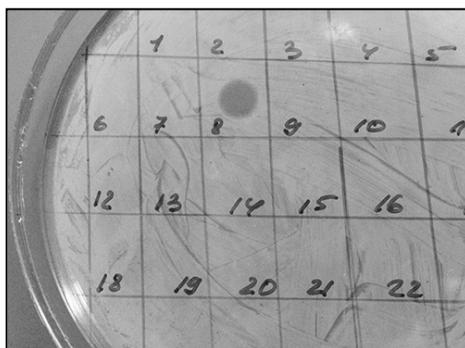


Рис. 7. Постановка опыта по фаготипированию культуры бактерий (цифрами обозначены культуры внесенных типоспецифических фагов)

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Бактериофаги – уникальные микроорганизмы, на основе которых создана особая по своим свойствам и характеристикам группа лечебно-профилактических препаратов. Антибактериальный эффект препаратов бактериофагов обусловлен внедрением генома фага в бактериальную клетку с последующим его размножением и лизисом инфицированной клетки. Вышедшие во внешнюю среду в результате лизиса бактериофаги повторно инфицируют и лизируют другие бактериальные клетки, действуя до полного уничтожения патогенных бактерий в очаге воспаления. По мере расширения коллекций бактериофагов, несомненно, будут появляться новые целевые патогены, будет расширяться спектр заболеваний, при которых фаги могут применяться как в режиме монотерапии, так и в составе комплексных схем лечения.

В молекулярной биологии бактериофаги используют в качестве относительно простой биологической системы и удобной экспериментальной модели при исследовании взаимоотношений вируса и клетки, а также закономерностей основных молекулярных процессов в клетке. Значительные успехи современной биологии в изучении механизмов репликации нуклеиновых кислот, возникновении мутаций, регуляции процессов транскрипции и трансляции были достигнуты именно с применением бактериофагов в качестве модельных объектов.

Бактериофаги могут быть использованы в качестве метки в диагностических иммунологических наборах наравне с радиоактивной, флуоресцентной и ферментной метками. В случае образования комплекса антигена с антителом присоединенный к антигену бактериофаг будет инактивироваться и негативные колонии на культуре чувствительных бактерий образовываться не будут.

В последние годы сконструированы библиотеки генов переменных областей иммуноглобулина человека, находящихся в составе рекомбинантных бактериофагов нитевидной формы (например, M13, fd). Внедрение фрагментов чужеродной ДНК, кодирующих короткие пептиды, в 5'-кодирующую область гена III белка оболочки фага M13, приводит к появлению фаговых частиц, на конце которых «выставлены» посторонние для них пептиды или белки (в данном случае иммуноглобулины). Благодаря этой технологии можно отбирать высокоаффинные антитела к любому данному антигену.

## СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ

**Бактериофаги** (от бактерии и греч. phagos – пожиратель) (фаги) – вирусы бактерий; способны поражать бактериальную клетку, репродуцироваться в ней и вызывать ее лизис. Классический объект исследований в молекулярной генетике. Используются для фагопрофилактики и фаготерапии инфекционных болезней.

**Бляшкообразующая (инфекционная) единица БОЕ** – это наименьшее тестируемое количество вируса, приводящее к образованию одной бляшки (зоны лизиса).

**Индекс чувствительности культур** – доля бактериальных культур, лизирующихся данным фагом, по отношению к общему числу испытанных штаммов. Например, если из 10 испытанных культур фагом лизируется 4, то можно говорить, что индекс чувствительности культур к данному фагу равен 0,25. Этим показателем можно пользоваться при сравнении спектров литического действия нескольких фагов.

**Монофаги** – фаги, способные взаимодействовать с бактериями одного вида (видоспецифические).

**Полифаги** – фаги, лизирующие близкородственные бактерии.

**Профаг** (англ. prophage) – геном фага, интегрированный в хромосомную ДНК бактериальных клеток. Умеренные фаги интегрируются в геном клетки-хозяина или существуют в виде плазмид.

**Спектр литического действия фага** – это способность бактериофага заражать и вызывать лизис определенного круга бактерий. По наличию бактериофагов, например, в воде, можно косвенно судить о присутствии в ней тех или иных бактерий, которые являются для них хозяевами. Определение спектра литического действия используют при эпидемиологическом анализе вспышек инфекционных заболеваний. Исследование спектра литического действия фага может быть полезно при определении пути попадания данного фага на производство, а также при выборе способов придания клеткам признака фагоустойчивости.

**Типовые фаги** – фаги, вызывающие лизис отдельных вариантов определенного вида бактерий.

**Титр бактериофага** – это количество активных фаговых частиц в единице объема исследуемого материала. Для определения титра бактериофага наиболее широко в практике работы с бактериофагами применяется метод агаровых слоев, предложенный А. Gratia в 1936 г.

**Фагодиагностика** – метод диагностики инфекционных болезней, основанный на способности стандартных препаратов бактериофагов лизировать (растворять) строго определённые микроорганизмы.

**Фаголизат** – суспензия бактериофага, полученная после лизиса зараженных фагом клеток бактерий. Для получения фаголизатов можно использовать как жидкие, так и агаризованные питательные среды. Фаго-

лизат получают путем размножения фага на клетках чувствительной культуры.

**Фаготерапия** – метод лечения бактериальных инфекционных болезней введением в организм бактериофагов. Выпускаются дизентерийный, сальмонеллезный, стафилококковый и др. фаги в жидком виде, таблетках, мазях. Бактериофаги не дают побочных эффектов и не имеют противопоказаний для применения.

**Фаготипирование** (определение фаготипа бактерий) – метод идентификации и классификации бактерий, основанный на избирательной чувствительности определенных штаммов или серотипов бактерий внутри одного и того же вида к высокоспецифичным фагам.

**Чистые линии** бактериофагов – это потомство одной фаговой частицы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Алсынбаев, М. М., Медведев, Ю. А., Туйгунов, М. М. Биопрепараты и ведущие направления их лечебно-профилактического применения: монография. – Уфа : РИО филиала «Иммунопрепарат» ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ, 2008. – 100 с.
2. Бактериофаги – антибактериальные препараты будущего: сб. статей. – М., 2009. – 66 с.
3. «Бактериофаги: Теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности» / Материалы международной научно-практической конференции.– Ульяновск, ГСХА им. П.А. Столыпина, 2013, т. II – 182 с.
4. Боргоякова, М. Б., Ильичев, А. А. Практикум по молекулярной вирусологии «Бактериофаги»: учеб.-метод. пособие / Новосиб. гос. ун-т. Новосибирск, 2013. – 34 с.
5. Вирусология: Методические рекомендации к лабораторным занятиям / Авт.-сост. А.Н. Евтушенков, Р.А. Желдакова, О.Б. Русь, А.М. Ходосовская. – Мн.: БГУ, 2006. – 50 с.
6. Габрилович, И. М. Основы бактериофагии. – Минск: Вышэйшая школа, 1973. – 224 с.
7. Дарбеева, О. С., Майская, Л. М., Перепанова, Т. С. Опыт использования адаптированных препаратов бактериофагов // Биопрепараты. – 2002. – № 1. – С. 13–17.
8. Дроздова, О. М., Брусина, Е. Б. Применение бактериофагов в эпидемиологической практике: взгляд через столетие // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2010. – № 5. – С. 20–24.
9. Зинченко, А. И., Паруль, Д. А. Основы молекулярной биологии вирусов и антивирусной терапии. – Минск: Вышэйшая школа, 2005. – 214 с.
10. Каттер, Э. Бактериофаги. Биология и практическое применение / под ред. Э. Каттер, А. Сулакулидзе // М: «Научный мир». – 2012. – 640 с.
11. Кюттер, Э. Фаговая терапия: бактериофаги как антибиотики / Э. Кюттер. – СПб.: НИИ детских инфекций, 2001. – 41 с.
12. Материалы международной научно-практической конференции «Бактериофаги: Теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности» / – Ульяновск: ГСХА им. П.А. Столыпина, 2013. – т. II – 182 с.
13. Основы вирусологии: учебное пособие / С. А. Павлович. – Минск: Вышэйшая школа, 2001. – 192 с.
14. Препараты бактериофагов: краткий обзор современного состояния и перспектив развития / И. В. Красильников, К. А. Лыско, Е. В. Отрашевская.
15. Стент, Г. Молекулярная биология вирусов бактерий, пер. с англ., М., 1965.
16. Хейс, У. Генетика бактерий и бактериофагов, пер. с англ., М., 1965.

Учебное издание

**Иконникова** Наталья Валерьевна

**БАКТЕРИОФАГИ – ВИРУСЫ  
БАКТЕРИЙ**

Учебное пособие

Редактор *А. В. Красуцкая*

Компьютерная верстка *М. Ю. Мошкова*

Корректор *А. В. Красуцкая*

Подписано в печать 07.03.2017. Формат 60×90 1/16.

Бумага офсетная. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 2,5. Уч.-изд. л. 1,98.

Тираж 100 экз. Заказ № 119.

Республиканское унитарное предприятие «Информационно-  
вычислительный центр Министерства финансов Республики Беларусь».

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,

распространителя печатных изданий

№ 1/161 от 27.01.2014, № 2/41 от 29.01.2014.

Ул. Кальварийская, 17, 220004, г. Минск.