

ОБЗОРЫ

Научный обзор
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-581>



Определение чувствительности бактерий к комбинации антибиотиков и фагов: обзор литературы

Пунченко О.Е.^{1, 2✉}, Пунченко Е.В.³, Гостев В.В.^{1, 4}, Савченко М.В.¹

¹Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

²Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;

³Национальный исследовательский университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия;

⁴Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

Аннотация

Цель обзора — дать описание существующих лабораторных методов для определения чувствительности бактерий к комбинации антибиотиков и бактериофагов.

Бактериофаги до сих пор рассматриваются некоторыми исследователями как альтернатива антибиотикам. Но всё чаще встречаются научные работы, в которых их совместное действие описывается в виде синергизма. Механизмы этого явления до конца не изучены, однако доказано, что в синергию с антибиотиками могут вступать не только вирулентные, но и умеренные фаги, позволяя снизить минимальную подавляющую концентрацию антибиотика в несколько раз. Поскольку синергию эмпирически пока предсказать невозможно, в микробиологических лабораториях используют различные методы *in vitro*, большинство из которых являются трудоёмкими. Актуальна разработка новой методики, которая может быть внедрена в ежедневную практику микробиологических лабораторий.

Ключевые слова: *резистентность, чувствительность, антибиотик, бактериофаг, синергия*

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Пунченко О.Е., Пунченко Е.В., Гостев В.В., Савченко М.В. Определение чувствительности бактерий к комбинации антибиотиков и фагов: обзор литературы. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024;101(5):699–705.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-581>

EDN: <https://www.elibrary.ru/rygxic>

Review
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-581>

Study of bacterial susceptibility to antibiotic and phage combinations: a literature review

Olga E. Punchenko^{1, 2✉}, Elizaveta V. Punchenko³, Vladimir V. Gostev^{1, 4}, Marina V. Savchenko¹

¹I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg, Russia;

²Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia;

³ITMO University, St. Petersburg, Russia;

⁴Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, St. Petersburg, Russia

Abstract

The aim of the review is to describe existing laboratory methods for determining the sensitivity of bacteria to a combination of antibiotics and bacteriophages. However, more and more often there are scientific papers in which their combined action is described as synergism. The mechanisms of this phenomenon have not been fully studied, but it has been proven that not only virulent but also moderate phages can enter into synergy with antibiotics, allowing the minimum inhibitory concentration of the antibiotic to be reduced several times. Since

synergy cannot yet be empirically predicted, microbiological laboratories use various *in vitro* methods, most of which are labor-intensive. The development of a new technique that can be introduced into the daily practice of microbiological laboratories is relevant.

Keywords: *resistance, susceptibility, antibiotic, bacteriophage, synergy*

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare that they have no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Punchenko O.E., Punchenko E.V., Gostev V.V., Savchenko M.V. Study of bacterial susceptibility to antibiotic and phage combinations: a literature review. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2024;101(5):699–705.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-581>

EDN: <https://www.elibrary.ru/rygxic>

Введение

В последние годы проблема устойчивости микроорганизмов к применяемым в медицине антибиотикам становится всё более острой, а широкое распространение резистентных к ним патогенов вызывает обеспокоенность клиницистов по всему миру. Среди этиологически значимых бактерий выделяют группу ESCAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.), для которых характерно разнообразие механизмов резистентности к противомикробным препаратам. В мае 2024 г. Всемирная организация здравоохранения опубликовала обновлённый список бактериальных патогенов, устойчивых к антибиотикам, представляющих наибольшую угрозу для здоровья человека. В зависимости от потребности в создании новых противомикробных препаратов и новых способов лечения микроорганизмы распределены по группам приоритетности. К критически высокому уровню отнесены резистентные к карбапенемам *A. baumannii* и микроорганизмы, входящие в состав порядка *Enterobacterales*, включая продуцентов β-лактамаз расширенного спектра. К высокоприоритетным патогенам отнесены *Salmonella* spp. и *Shigella* spp., устойчивые к фторхинолонам, *E. faecium*, устойчивые к ванкомицину, *P. aeruginosa*, устойчивые к карбапенемам, *Neisseria gonorrhoeae*, устойчивые к цефалоспорином третьего поколения и/или фторхинолонам, и метициллин-резистентные *S. aureus*. К среднему уровню приоритетности отнесены *Streptococcus* группы А и *S. pneumoniae*, устойчивые к макролидам, *Haemophilus influenzae*, устойчивые к ампициллину, *Streptococcus* группы В, устойчивые к пенициллину¹. В России в 2017 г. принята Стратегия предупреждения и распространения резистентности на

период до 2030 г., в которой предусмотрено внедрение современных методов изучения механизмов её формирования, мониторинга распространения и пути сдерживания. Особое значение и внимание уделено ESCAPE-патогенам в СанПиН 3.3686-21 как основным возбудителям инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи². С учётом растущей резистентности бактерий к химиопрепаратам назрела необходимость внедрения альтернативных подходов к лечению вызываемых ими заболеваний. Взамен антибиотиков разные авторы предлагают использовать пробиотики, микробные ферменты, бактериоцины, бактериофаги и их лизины, синтетические фаги, вакцины, сыворотки и другие биопрепараты [1–6].

Наиболее перспективными в этом перечне выглядят фаги — вирусы бактерий, т. к. они не оказывают токсического действия на клетки макроорганизма и не подавляют иммунитет, поэтому для их назначения практически отсутствуют противопоказания. При этом они обладают узконаправленным действием и не вызывают негативных изменений в составе микробиоты человека. В отличие от других противомикробных препаратов, бактериофаги способны преодолевать развившуюся к ним невосприимчивость бактерий, используя несколько стратегий. По сравнению с β-лактамами антибиотиками, которые вызывают гибель микробных клеток в течение 3 ч, лизис бактерий под действием фагов может происходить менее чем за 10 мин. Однако, в отличие от антибиотиков, действие бактериофагов не приводит к кумулятивному накоплению эндотоксина при разрушении грамотрицательных бактерий [7].

Единственным в России производителем лекарственных бактериофагов является НПО «Ми-

¹ Список приоритетных бактериальных патогенов. URL: <https://www.who.int/ru/news/item/17-05-2024-who-updates-list-of-drug-resistant-bacteria-most-threatening-to-human-health> (дата обращения: 05.08.2024).

² Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 № 4 «Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 “Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней”».

кроген», выпускающее более 14 уникальных препаратов. На сегодняшний день на рынке представлены бактериофаги, активные в отношении не только ESCAPE-патогенов, но и возбудителей диарейных заболеваний — шигеллёзов, сальмонеллёзов, эшерихиозов. Препараты фагов выпускаются или как комбинированные — против нескольких родов бактерий, или как монопрепараты, специфичные против конкретного вида возбудителя. Необходимо отметить, что в России применение бактериофагов закреплено в нормативных документах, в то время как в большинстве стран Европы и Азии, Австралии, США только недавно начали разрабатывать регулирующие применение фагов документы [8, 9].

Большинство исследований показали высокую эффективность и безопасность тестируемых фагов, в том числе против приоритетных бактериальных патогенов [10]. Фаготерапия без использования антибиотиков привела к успеху в борьбе с ванкомицин-резистентными энтерококками, метициллин-резистентными стафилококками (MRSA и MRSE) [11]. В редких случаях были описаны явления антагонизма при совместном назначении антибиотика и бактериофага [10]. Поэтому перед их назначением должно обязательно проводиться определение чувствительности конкретного штамма к антимикробным препаратам. В России определение чувствительности бактерий к бактериофагам регламентировано методическими рекомендациями по рациональному использованию бактериофагов³, к антибиотикам — клиническими рекомендациями⁴. В связи с этим ставится актуальный вопрос об определении чувствительности бактерий к комбинации антибиотиков и фагов в микробиологических лабораториях.

Цель обзора — описать существующие лабораторные методы по совместному определению чувствительности бактерий к антибиотикам и бактериофагам.

Объединённое действие фага и антибиотика впервые было описано Neter и Clark в 1944 г. на примере *S. aureus* и пенициллина. В 2004 г. появились результаты экспериментов на куриной модели, посвящённые изучению взаимодействия фага и энрофлоксацина против *Escherichia coli*, проведенные Huff и соавт., а спустя несколько лет А.М. Сомеау с исследовательской группой провели тестирование *in vitro* и заметили, что субингибирующие концентрации отдельных антибиотиков могут влиять на выработку вирулентных фагов, инфицирующих *E. coli*. Авторы дали название этому феномену —

«синергия фага и антибиотика» (Phage-Antibiotic Synergy, PAS). Долгое время механизм синергии оставался неизвестным, пока с помощью электронной микроскопии не изучили обработанные антибиотиком и фагом культуры бактерий. Было установлено, что химиопрепараты, нарушающие синтез пептидогликана, приводят к удлинению бактериальных клеток, что способствует репликации фага и, вероятно, активному прикреплению его к бактерии из-за увеличения поверхности клеточной стенки [12–14].

Феномен PAS широко изучали во многих лабораториях, в результате чего были получены подтверждения синергизма для различных комбинаций фагов с антибиотиками разных фармакологических групп. Однако методы, используемые для оценки этих взаимодействий, до сих пор не унифицированы, поэтому подходы у разных исследователей имеют существенные различия. Самым простым выходом из ситуации представляется заимствование метода, используемого при изучении взаимодействия разных классов антибиотиков, т. к. комбинированная противомикробная терапия назначается пациентам с бактериемией, пневмонией, хирургической инфекцией, а также пациентам с септическим шоком в отделениях интенсивной терапии. На сегодняшний день описаны 4 метода, с помощью которых синергию химиопрепаратов возможно оценить *in vitro*: метод «шахматной доски»; комбинированное тестирование бактерицидного действия нескольких антимикробных препаратов; E-test; анализ графика гибели бактерий в зависимости от времени действия антибиотика, так называемый time-kill assays [15]. Среди доступных методов определения синергизма «золотым» стандартом является time-kill assays [16, 17], который впервые был применён именно для подтверждения синергизма фага и антибиотика⁵. Обнаруженные *in vitro* взаимодействия рассчитывают и интерпретируют как синергические, аддитивные, индифферентные или антагонистические в зависимости от того, является ли антибактериальная активность препаратов в комбинации большей, эквивалентной или меньшей, чем активность препаратов, применяемых по отдельности.

Разведения в бульоне

При этом методе используют 96-луночные планшеты, в лунках которых проводят совместное культивирование бульонной взвеси бактерий, антибиотика и фага. Предварительно изучают активность фага и минимальную подавляющую кон-

³ Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике: Методические рекомендации. М.;2022.

⁴ Российские рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам». Смоленск;2024.

⁵ International Organisation for Standardization. Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial testing devices. 2019;Part 1. URL: <https://iso.org/standard/70464.html>

центрацию (МПК) антибиотика, т. к. для изучения синергии используют их субингибирующие концентрации. Результат оценивают, измеряя кинетику роста по оптической плотности (ОП) с помощью спектрофотометра или по метаболизму бактерий после их окрашивания тетразолием, который меняет цвет в ответ на клеточное дыхание. Оценка результата с помощью прибора в режиме реального времени позволяет определить время, затраченное на частичное ингибирование, выявить поздний лизис и возобновление роста бактерий. Однако только по ОП невозможно сделать вывод о жизнеспособности бактерий и отличить погибшие (еще не разрушенные бактерии) от живых. Дополнительное окрашивание исключает ошибку и позволяет обнаружить только метаболически активные (живые) бактерии. С одной стороны, этот метод даёт возможность не только тестировать любые сочетания антибиотиков и бактериофагов, но и изменять их концентрацию. С другой стороны, необходимо учитывать, что использование одной концентрации антибиотика (половина от предварительно известной МПК) и фага (ниже лизирующей по Аппельману) не всегда позволяет сделать вывод об их взаимодействии и выявить закономерность. В то же время, используя более трудоёмкий способ, комбинируя несколько концентраций антибиотика и фага, можно найти те сочетания двух антимикробных препаратов, при которых будет наблюдаться их синергия [18, 19]. Некоторыми исследователями феномен PAS был достигнут даже при разведении антибиотика в 4, 10 и 100 раз от МПК и в 100 и 1000 раз фага от его исходной концентрации [20].

В некоторых случаях для изучения синергии возможно использование бактериофага, лизирующего штамм бактерии, не менее чем на 3+, при этом антибиотик берут в двух концентрациях: МПК и 1/2 МПК. В случае устойчивости к фагу бактерий — антибиотик в максимально допустимой концентрации [19].

С использованием автоматизированных систем этот способ позволяет строить синопаммы в режиме реального времени, изучая концентрации антибиотиков и титра бактериофагов. Прибор из каждой лунки считывает величину поглощения как отдельный параметр и преобразует полученные данные в тепловую карту, представляющую процент снижения количества бактерий. Как правило, синопаммы удается разделить на три части: область действия антибиотика, область действия бактериофага и область их совместного действия, по которой возможно оценить эффект их взаимодействия (PAS). Использование этого метода позволяет визуализировать эффективность комбинации и выбрать оптимальную концентрацию антибиотика и фага. Дополнительным преимуществом этого метода является возможность смоделировать ситуа-

цию в организме человека при добавлении в лунки биологических жидкостей [21].

Для упрощения этой методики I. Nikolic и соавт. предложили метод «шахматной доски», который используется для изучения взаимодействия 2 химиопрепаратов [22]. Для более надёжного результата метода реализуют в автоматизированном варианте. Выбор разведения зависит от литической активности фага и МПК антибиотика, поэтому перед постановкой теста эти показатели необходимо определить заранее. В лунки стерильного плоского планшета слева направо вносят разведения антибиотика для создания двукратного серийного убывающего градиента концентрации в диапазоне 8–0,125 от МПК. В лунках по направлению сверху вниз создают двукратный серийный убывающий градиент концентрации фага в том же диапазоне, после чего в планшет вносят суспензию тестируемого микроорганизма. Ингибирующие концентрации антибиотика и фага позволяют рассчитывать значения индекса фракционной ингибирующей концентрации (ФИК) с применением формулы:

$$\Sigma \text{ФИК} = \frac{\text{МПК}_{\text{ас}}}{\text{МПК}_{\text{а}}} + \frac{\text{МПК}_{\text{вс}}}{\text{МПК}_{\text{в}}}$$

где: МПК_{ас} — МПК антибиотика в сочетании с бактериофагом, мкг/мл; МПК_а — МПК антибиотика, мкг/мл; МПК_{вс} — МПК фага в сочетании с антибиотиком; МПК_в — МПК бактериофага, мкг/мл.

Учёт результатов:

- ФИК < 0,5 — синергия (комбинация соединений увеличивает ингибирующую активность одного или обоих соединений);
- ФИК = 0,5–4,0 — отсутствие взаимодействия (комбинация не имеет увеличения МПК из-за аддитивного эффекта обоих соединений);
- ФИК > 4 — антагонизм (комбинация соединений увеличивает МПК) [22, 23].

Разведения в бульоне, хотя их считают более надёжными тестами, более сложны по сравнению с использованием плотных питательных сред. Для их постановки требуются работа с большими объёмами в асептических условиях, предварительное определение МПК и литической активности бактериофага, а также специальное оборудование для постоянного подсчёта количества бактерий через короткие промежутки времени в течение суток. В отсутствие спектрофотометра измерение ОП можно заменить количественным высевом из лунок через сутки инкубации, что делает этот метод менее точным и увеличивает трудозатраты и время выдачи ответа как минимум на сутки [20, 24]. Описанные подходы в нашей стране не стандартизированы, при этом требуют много времени на постановку, что имеет ограничение для определения эффектов PAS — совместного назначения антибиотика и бактериофага в условиях практической лаборатории.

Использование плотных питательных сред

Двухслойный агаровый метод

Впервые эффект PAS по отношению к уропатогенному штамму *E. coli* (UPEC) на плотной питательной среде описали А.М. Comeau и соавт. [25]. Они заметили, что вокруг некоторых дисков с антибиотиками, наложенных на среду, засеянную глубинным способом, тестируемый уропатогенный штамм *E. coli* и бактериофаг, фаговые бляшки были значительно крупнее. Авторами было сделано предположение, что сублетальная доза β -лактамов стимулирует активность фага. В дальнейшем результаты были подтверждены при добавлении антибиотиков в разных концентрациях к смеси *E. coli* и фага, которые все вместе заливались в полужидкий агар: фаг образовывал маленькие бляшки без цефотаксима и крупные бляшки в присутствии антибиотика в концентрации 50 нг/мл. При дальнейшем увеличении концентрации антибиотика он полностью подавлял рост бактерии, и результат действия фага было невозможно изучить из-за сплошного лизиса.

Простота изложенной методики позволила другим исследователям провести схожие эксперименты, используя различные штаммы бактерий, препараты фагов и антибиотиков, комбинируя в агаре фаги с бактериями либо бактерии с антибиотиком, а на поверхность застывшего слоя размещать, соответственно, диски с антибиотиками или капли бактериофагов [26–28].

E-тест

Для определения синергии можно использовать метод градиентной диффузии. Существуют две модификации этой методики. В первом варианте две полоски, пропитанные антибактериальными препаратами, размещают перпендикулярно друг другу на засеянную испытуемой культурой чашку Петри, пересекаясь на уровне МПК для каждого антибиотика. Как и в случае с методом «шахматной доски», интерпретация синергии E-теста основана на расчёте индекса ФИК. Во втором варианте теста полоску с антибиотиком накладывают на засеянную газонем культуру в чашку Петри, через час полоску удаляют, а на её место накладывают полоску, пропитанную фагом. В качестве контроля используют вторую чашку с наложенными полосками с антибиотиком и бактериофагом, которые не соприкасаются друг с другом. Синергия определяется как снижение МПК не менее чем на три 10-кратных разведения, индифферентность — как уменьшение МПК не менее чем на два 10-кратных разведения, антагонизм — как увеличение МПК на три и более 10-кратных разведений [15].

Диско-диффузионный метод

В этом варианте перед постановкой классического диско-диффузионного метода проводят инкубацию в течение суток культуры бактерий ($0,5 \text{ McF}$) с бактериофагом (10^8 БОЕ/мл), после чего из неё получают суточную культуру на плотной среде. В качестве контроля используют суточную культуру без предварительной инкубации с фагом. Определение синергии антибиотика и фага этим методом затруднительно, т. к. диаметр задержки роста вокруг диска с антибиотиком изменяется незначительно [29]. Также к недостаткам метода можно отнести двойной расход стандартных дисков за счёт постановки контролей.

Заключение

Как показывает анализ доступных источников, на сегодняшний день отсутствуют доступные и воспроизводимые в рутинной лабораторной практике методики по определению взаимодействия бактериофагов и антибиотиков. При сравнении известных методов не удаётся получить их 100% корреляцию; совпадение варьирует от 44 до 88% при сравнении time-kill assays с методом «шахматной доски», от 63 до 75% — при сравнении time-kill assays с E-тестом и около 90% — при сравнении E-теста с методом «шахматной доски». В большинстве работ предлагается авторский метод без сопоставления с существующими, а в качестве тест-штамма используют один вид и штамм микроорганизма. В то же время взаимодействие фага и антибиотика зависят не только от выбранных препаратов, но и от тестируемого штамма в пределах одного вида. Исследования показали, что даже прогнозы, полученные при помощи искусственного интеллекта и машинного обучения, требуют перепроверки в лаборатории перед началом лечения [15]. И несмотря на то что описаны предполагаемые механизмы синергетического действия фагов с антибиотиками, индуцирующими и не индуцирующими SOS-репарацию⁶, чтобы ответить на вопрос, можно ли комбинировать фаги с антибиотиками для лечения инфекции, вызванной конкретным штаммом, необходимо каждый раз проводить тестирование *in vitro*. Для определения чувствительности бактерий к комбинации антибиотиков и фагов в исследовании необходимо включать все вирулентные бактериофаги даже при исходной нечувствительности к ним бактерий, поскольку описано восстановление чувствительности штамма к фагу в присутствии

⁶ Защитная система бактерий, которая активируется в ответ на повреждение ДНК или ингибирование репликации и запускает сложную цепочку защитных реакций. SOS (save our souls) — международный сигнал бедствия в радиотелеграфной связи с использованием азбуки Морзе.

антибиотика и проявление синергии 2 препаратов. Одно из новых направлений — исследование механизмов совместного действия антибиотиков и умеренных фагов, которые всегда рассматривались как непреодолимое препятствие для терапии. Синергия уже описана у 7 групп антибиотиков с умеренным бактериофагом [30].

Одной из ключевых задач микробиологической лаборатории является предоставление достоверной информации по использованию противомикробных препаратов, в том числе их комбинаций, для лечения инфекционных заболеваний. Методы, с помощью которых лаборатория оценивает чувствительность к антибиотикам и бактериофагам по отдельности, высоко стандартизированы и воспроизводимы. Именно эта воспроизводимость позволяет лабораториям получать сопоставимые результаты. С учётом того, что предсказать эмпирически взаимодействие антибиотика и фага невозможно, а сочетание бактериофагов и антибиотиков способно вызывать как положительные, так и отрицательные сдвиги в изменении МПК химиопрепарата, необходима разработка максимально простой методики с понятным протоколом и доступным оборудованием, которая может быть внедрена в любую микробиологическую лабораторию.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Назаров П.А. Альтернативы антибиотикам: литические ферменты бактериофагов и фаговая терапия. *Вестник Российской государственной медицинской университета*. 2018;(1):5–15. Nazarov P.A. Alternatives to antibiotics: lytic enzymes of bacteriophages and phage therapy. *Bulletin of Russian State Medical University*. 2018;(1):5–15. DOI: <https://doi.org/10.24075/brsmu.2018.002> EDN: <https://elibrary.ru/xxwewl>
2. Kim M., Jo Y., Hwang Y.J., et al. Phage-antibiotic synergy via delayed lysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 2018;84(22):e02085–18. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.02085-18>
3. Segall A.M., Roach D.R., Strathdee S.A. Stronger together? Perspectives on phage-antibiotic synergy in clinical applications of phage therapy. *Curr. Opin. Microbiol.* 2019;51:46–50. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.03.005>
4. Turner P.E., Azeredo J., Buurman E.T., et al. Addressing the research and development gaps in modern phage therapy. *PHAGE*. 2024;5(1):30–9. DOI: <https://doi.org/10.1089/phage.2023.0045>
5. Benyamini P. Beyond antibiotics: what the future holds. *Antibiotics (Basel)*. 2024;13(10):919. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics13100919>
6. Xiao G., Li J., Sun Z. The combination of antibiotic and non-antibiotic compounds improves antibiotic efficacy against multidrug-resistant bacteria. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(20):15493. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms242015493>
7. Dufour N., Delattre R., Ricard J.D., Debarbieux L. The lysis of pathogenic *Escherichia coli* by bacteriophages releases less endotoxin than by β -lactams. *Clin. Infect. Dis.* 2017;64(11):1582–8. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/cix184>
8. Yang Q., Le S., Zhu T., Wu N. Regulations of phage therapy across the world. *Front. Microbiol.* 2023;14:1250848. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1250848>
9. Hitchcock N.M., Devequi Gomes Nunes D., Shiach J., et al. Current clinical landscape and global potential of bacteriophage therapy. *Viruses*. 2023;15(4):1020. DOI: <https://doi.org/10.3390/v15041020>
10. Al-Ishaq R.K., Skariah S., Büsselberg D. Bacteriophage treatment: critical evaluation of its application on World Health Organization priority pathogens. *Viruses*. 2020;13(1):51. DOI: <https://doi.org/10.3390/v13010051>
11. Sybesma W., Rohde C., Bardy P., et al. Silk route to the acceptance and re-implementation of bacteriophage therapy — part II. *Antibiotics (Basel)*. 2018;7(2):35. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics7020035>
12. Nepal R., Houtak G., Shaghayegh G., et al. Prophages encoding human immune evasion cluster genes are enriched in *Staphylococcus aureus* isolated from chronic rhinosinusitis patients with nasal polyps. *Microb. Genom.* 2021;7(12):000726. DOI: <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000726>
13. Liu C., Hong Q., Chang R.Y.K., et al. Phage-antibiotic therapy as a promising strategy to combat multidrug-resistant infections and to enhance antimicrobial efficiency. *Antibiotics (Basel)*. 2022;11(5):570. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11050570>
14. Qin K., Shi X., Yang K., et al. Phage-antibiotic synergy suppresses resistance emergence of *Klebsiella pneumoniae* by altering the evolutionary fitness. *mBio*. 2024;15(10):e0139324. DOI: <https://doi.org/10.1128/mbio.01393-24>
15. Doern C.D. When does 2 plus 2 equal 5? A review of antimicrobial synergy testing. *J. Clin. Microbiol.* 2014;52(12):4124–8. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.01121-14>
16. Knezevic P., Curcin S., Aleksic V., et al. Phage-antibiotic synergism: a possible approach to combatting *Pseudomonas aeruginosa*. *Res. Microbiol.* 2013;164(1):55–60. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2012.08.008>
17. Attwood M., Griffins P., Noel A., et al. Development of antibacterial drug+bacteriophage combination assays. *JAC-Antimicrobial Resistance*. 2024;6(4):dlac104. DOI: <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlae104>
18. Абдраймова Н.К., Корниенко М.А., Беспятых Д.А. и др. Комбинированное воздействие бактериофага vb_saum-515a1 и антибиотиков на клинические изоляты *Staphylococcus aureus*. *Вестник Российской государственной медицинской университета*. 2022;(5):23–30. Abdaimova N.K., Kornienko M.A., Bespyatykh D.A., et al. Combined effect of bacteriophage vb_saum-515a1 and antibiotics on clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Bulletin of Russian State Medical University*. 2022;(5):23–30. DOI: <https://doi.org/10.24075/vrgmu.2022.052>
19. Yerushalmy O., Braunstein R., Alkalay-Oren S., et al. Towards standardization of phage susceptibility testing: The Israeli phage therapy center «Clinical phage microbiology» — a pipeline proposal. *Clin. Infect. Dis.* 2023;77(Suppl. 5):S337–51. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciad514>
20. Alharbi M.G., Al-Hindi R.R., Alotibi I.A., et al. Evaluation of phage-antibiotic combinations in the treatment of extended-spectrum β -lactamase-producing *Salmonella enteritidis* strain PT1. *Heliyon*. 2023;9(1):e13077. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13077>
21. Gu Liu C., Green S.I., Min L., et al. Phage-antibiotic synergy is driven by a unique combination of antibacterial mechanism of action and stoichiometry. *mBio*. 2020;11(4):e01462–20. DOI: <https://doi.org/10.1128/mbio.01462-20>
22. Артюх Т.В. Изучение синергии антибактериальных препаратов с использованием метода «шахматной доски» и анализа «времени уничтожения». *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия биологических наук*. 2022;67(3):332–42. Artyukh T.V. Studying synergy of antibacterial drugs using the “checkerboard” method and the

ОБЗОРЫ

- “time-kill” analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, Biological Series*. 2022;67(3):332–42. DOI: <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-3-332-342>
23. Nikolic I., Vukovic D., Gavric D., et al. An optimized checkerboard method for phage-antibiotic synergy detection. *Viruses*. 2022;14(7):1542. DOI: <https://doi.org/10.3390/v14071542>
24. Manohar P., Madurantakam Royam M., Loh B., et al. Synergistic effects of phage-antibiotic combinations against *Citrobacter amalonaticus*. *ACS Infect. Dis.* 2022;8(1):59–65. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.1c00117>
25. Comeau A.M., Tétart F., Trojet S.N., et al. Phage-Antibiotic Synergy (PAS): beta-lactam and quinolone antibiotics stimulate virulent phage growth. *PLoS One*. 2007;2(8):e799. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000799>
26. Iqbal M., Narulita E., Zahra F., Murdiyah S. Effect of Phage-Antibiotic Synergism (PAS) in increasing antibiotic inhibition of bacteria caused of foodborne diseases. *J. Infect. Dev. Ctries*. 2020;14(5):488–93. DOI: <https://doi.org/10.3855/jidc.12094>
27. Ali S., Aslam M.A., Kanwar R., et al. Phage-antibiotic synergism against *Salmonella typhi* isolated from stool samples of typhoid patients. *Ir. J. Med. Sci.* 2024;193(3):1377–84. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11845-023-03599-w>
28. Moradpour Z., Yousefi N., Sadeghi D., Ghasemian A. Synergistic bactericidal activity of a naturally isolated phage and ampicillin against urinary tract infecting *Escherichia coli* O157. *Iran. J. Basic Med. Sci.* 2020;23(2):257–63. DOI: <https://doi.org/10.22038/ijbms.2019.37561.8989>
29. Вакарина А.А., Алешкин А.В., Рубальский Е.О. и др. Влияние вирулентных бактериофагов на антибиотикочувствительность бактерий *Staphylococcus aureus*. *Астраханский медицинский журнал*. 2020;15(4):29–39. Vakarina A.A., Aleshkin A.V., Rubalsky E.O., et al. Effect of virulent bacteriophages on antibiotic sensitivity of *Staphylococcus aureus* bacteria. *Astrakhan Medical Journal*. 2020;15(4):29–39. DOI: <https://doi.org/10.17021/2020.15.4.29.39> EDN: <https://elibrary.ru/ytmuqt>
30. Al-Anany A.M., Fatima R., Nair G., et al. Temperate phage-antibiotic synergy across antibiotic classes reveals new mechanism for preventing lysogeny. *mBio*. 2024;15(6):e0050424. DOI: <https://doi.org/10.1128/mbio.00504-24>

Информация об авторах

Пунченко Ольга Евгеньевна[✉] — к. м. н., доцент, доцент кафедры медицинской микробиологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия; с. н. с. лаб. биомедицинской микробиологии Института экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия, olga.punchenko@szgmu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1847-3231>

Гостев Владимир Валерьевич — к. б. н., доцент каф. медицинской микробиологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия; с. н. с. научно-исследовательского отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Детского научно-клинического центра инфекционных болезней, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-3480-8089>

Пунченко Елизавета Викторовна — аспирант факультета биотехнологий Университета ИТМО, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0009-0009-0575-9423>

Савченко Марина Владимировна — студентка 6-го курса медико-профилактического факультета СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0009-0002-3407-1635>

Участие авторов: Пунченко О.Е. — идея статьи, общее руководство, написание текста статьи; Гостев В.В. — написание текста статьи, утверждение окончательного варианта статьи; Пунченко Е.В. — написание текста статьи, редактирование текста; Савченко М.В. — написание текста статьи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям Международного комитета редакторов медицинских журналов, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию для публикации.

Статья поступила в редакцию 19.08.2024;
принята к публикации 09.09.2024;
опубликована 30.10.2024

Information about the authors

Olga E. Punchenko[✉] — Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Medical Microbiology, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg, Russia; senior researcher, Laboratory of biomedical microecology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia, olga.punchenko@szgmu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1847-3231>

Vladimir V. Gostev — Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor, Department of medical microbiology, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg, Russia; senior researcher, Research department of medical microbiology and molecular epidemiology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-3480-8089>

Elizaveta V. Punchenko — postgraduate student, Faculty of biotechnology, ITMO University, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0009-0009-0575-9423>

Marina V. Savchenko — 6th year student, Medical and preventive faculty, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, Saint-Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0009-0002-3407-1635>

Author contribution: Punchenko O.E. — idea of the article, general guidance, writing the text of the article; Gostev V.V. — writing the text of the article, approving the final version of the article; Punchenko E.V. — writing the text of the article, editing the text; Savchenko M.V. — writing the text of the article. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 19.08.2024;
accepted for publication 09.09.2024;
published 30.10.2024