

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Global Initiative for Asthma (GINA) Teaching slide set 2017 update / Mode of access: <http://ginasthma.org/>. — Data of access: 10.02.2018.
2. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы (пересмотр 2014) / под ред. А. С. Белевского. — М.: Российское респираторное общество, 2015. — 148 с.
3. International ERS/ATS Guidelines on Definition Evaluation and Treatment of Severe Asthma / K. F. Chang [et al.] // *Eur. Respir. J.* — 2014. — № 43. — P. 343–373.
4. Overall asthma control: The relationship between current control and future risk / E. D. Bateman [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* — 2010. — № 125 (3). — P. 600–608.
5. Комплексная динамическая оценка качества жизни пациентов с бронхиальной астмой / Д. Ю. Рузанов [и др.] // *Медицинская панорама.* — 2014. — № 7 (151). — С. 84–86.
6. March, M. E. Genetic polymorphisms and associated susceptibility to asthma / M. E. March, P. M. Sleiman, H. Nakonaron // *Int. J. Gen. Med.* — 2013 Apr. — Vol. 6. — P. 253–265.
7. Хайтович, М. В. Фармакогенетика бронхіальної астми / М. В. Хайтович // *Фармакологія та лікарська токсикологія.* — 2015. — № 3 (44). — С. 17–27.
8. Мутация С3435Т в гене множественной лекарственной устойчивости MDR1 — фармакогенетический маркер тяжелого течения бронхиальной астмы / Ж. А. Миронова [и др.] // *Российский аллергологический журнал.* — 2012. — № 2. — С. 9–12.
9. Adrenergic beta (2)-receptor genotype predisposes to exacerbations in steroid-treated asthmatic patients taking frequent albuterol or salmeterol / K. Basu [et al.] // *J Allergy Clin Immunol.* — 2009. — Dec; 124(6). — P. 1188–1194.
10. Reference SNP (refSNP) Cluster Report: rs1045642 [Electronic resource] / Mode of access: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1045642. — Data of access: 31.05.2016.
11. Association of IL-13 gene polymorphisms with airway hyper-responsiveness in a Japanese adult asthmatic population / Yu Utsumi [et al.] // *Respiratory Investigation.* — 2013. — 51(3). — P. 147–152.
12. Рокіцкі, П. Ф. Биологическая статистика / П. Ф. Рокіцкі. — Минск: Выш. шк., 1967. — 327 с.
13. Лакин, Г. Ф. Биометрия: учеб. пособие для биол. спец. вузов / Г. Ф. Лакин. — М.: Высш. шк., 1990. — 352 с.
14. Polymorphisms in IL13 pathway genes in asthma and chronic obstructive pulmonary disease / B. Béghe [et al.] // *Allergy.* — 2010. — № 65. — P. 474–481.

Поступила 21.02.2018

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА И БИОЛОГИЯ

УДК 579.842.16:615.281

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ПРЕПАРАТАМ БАКТЕРИОФАГОВ
КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*
С РАЗЛИЧНЫМИ УРОВНЯМИ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

Д. В. Тапальский, А. И. Козлова

Учреждение образования
«Гомельский государственный медицинский университет»,
г. Гомель, Республика Беларусь

Цель: оценить чувствительность клинических изолятов *K. pneumoniae* с различными уровнями антибиотикорезистентности к коммерческим препаратам бактериофагов.

Материал и методы. Выполнена реидентификация и определена чувствительность к антибиотикам и препаратам бактериофагов 109 клинических изолятов *K. pneumoniae*, выделенных от госпитализированных пациентов в лечебных учреждениях трех регионов Беларуси. Методом полимеразной цепной реакции в реальном времени определено наличие генов карбапенемазы.

Результаты. Показано широкое распространение экстремальной антибиотикорезистентности среди *K. pneumoniae*, связанное с продукцией карбапенемазы NDM и OXA-48. Установлена недостаточная литическая активность препаратов бактериофагов в отношении штаммов *K. pneumoniae*. Наиболее широким спектром активности обладал препарат «Секстаф», который лизировал с высокой активностью 28,4 % изолятов клебсиелл.

Заключение. Препараты бактериофагов можно рассматривать как возможную альтернативу антибиотикам для лечения инфекций, вызванных экстремально антибиотикорезистентными изолятами *K. pneumoniae*. Необходимо дополнить состав выпускаемых препаратов фаговыми штаммами, активными в отношении изолятов клебсиелл, продуцирующих карбапенемазы.

Ключевые слова: клебсиеллы, антибиотикорезистентность, карбапенемазы, бактериофаги.

SENSITIVITY OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* CLINICAL ISOLATES
WITH VARIOUS LEVELS OF ANTIBIOTIC RESISTANCE
TO BACTERIOPHAGE PREPARATIONS

D. V. Tapalsky, A. I. Kozlova

Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus

Objective: to assess sensitivity of *K. pneumoniae* clinical isolates with different levels of antibiotic resistance to commercial bacteriophage preparations.

Material and methods. We have performed re-identification and determination of the sensitivity to antibiotics and bacteriophage preparations of 109 *K. pneumoniae* clinical isolates isolated from patients hospitalized in medical institutions of three regions of Belarus. The presence of carbapenemase genes has been detected by real-time PCR.

Results. The study has shown a widespread prevalence of extreme antibiotic resistance among *K. pneumoniae* associated with the production of NDM and OXA-48 carbapenemases and has found an insufficient lytic activity of bacteriophage preparations against *K. pneumoniae* strains. The preparation «Sextafag», which lysed with a high activity of 28.4 % of *Klebsiella* isolates possessed the widest spectrum of activity.

Conclusion. Bacteriophage preparations can be considered as a possible alternative to antibiotics in the treatment of infections caused by extremely antibiotic-resistant *K. pneumoniae* isolates. It is necessary to supplement the composition of commercial preparations with phage strains that are active against *Klebsiella* isolates producing carbapenemases.

Key words: klebsiellae, antibiotic resistance, carbapenemases, bacteriophages.

Введение

В настоящее время грамотрицательные бактерии с множественной антибиотикорезистентностью (MDR — multiple drug resistance: резистентность к трем или более классам антибиотиков) и экстремальной антибиотикорезистентностью (XDR — extensively drug resistance: резистентность ко всем, кроме одного или двух классов антибиотиков) представляют собой серьезную угрозу для госпитализированных пациентов и могут способствовать возникновению как единичных случаев инфекций, так и трудно ликвидируемых внутрибольничных вспышек.

Одним из «проблемных» возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, считается *Klebsiella pneumoniae* — грамотрицательная, неподвижная, факультативно-анаэробная палочка из семейства Enterobacteriaceae, обладающая способностью к интенсивному капсулообразованию. Большинство XDR-штаммов *K. pneumoniae*, выделяемых от госпитализированных пациентов, являются продуцентами β-лактамаз расширенного спектра и/или карбапенемаз и обладают ассоциированной устойчивостью к фторхинолонам и аминогликозидам [1]. Особую тревогу вызывают поступающие из различных регионов мира сообщения о нарастающей резистентности *K. pneumoniae* к карбапенемам — препаратам выбора при тяжелых нозокомиальных инфекциях, обусловленных грамотрицательными микроорганизмами [2]. Показано широкое распространение генов карбапенемаз среди экстремально-антибиотикорезистентных госпитальных изолятов энтеробактерий, выделенных в различных регионах Беларуси [3]. Продукция карбапенемаз (сериновых ОХА-карбапенемаз, метало-β-лактамаз, в том числе метало-β-лактамазы NDM-1 и др.) является важным маркером экстремальной антибиотикорезистентности *K. pneumoniae* и других грамотрицательных бактерий, поскольку в большинстве случаев она ассоциирована с устойчивостью ко многим не-β-лактамам [4, 5]. В результате мутационной изменчивости или горизонтальной трансмиссии генов (в составе плазмид, транспозонов и трансдуцирующих фагов) формируются определенные эпи-

демиологически значимые клоны, способные быстро распространяться на обширных территориях (например, ST15, ST101 и ST395 для ОХА-48-содержащих изолятов *K. pneumoniae*) [6].

Эксперты придают особое значение проблеме карбапенем-резистентных возбудителей в связи с практически полным отсутствием на сегодняшний день альтернативных антибиотиков для этиотропной терапии пациентов. Особый интерес в качестве потенциальных антибактериальных агентов для лечения полирезистентных инфекций, вызываемых *K. pneumoniae*, представляют литические лечебные бактериофаги — вирусы бактерий, способные инфицировать и эффективно лизировать клетки своего бактериального хозяина [7]. В качестве противомикробных средств бактериофаги стали применять вскоре после открытия, начиная с 1920-х гг., однако появившиеся в последующие десятилетия антибиотики быстро вытеснили фагопрепараты из арсенала этиотропной терапии бактериальных инфекций [8]. Как правило, бактериофаги обладают высокоспецифичным действием, направленным против определенных видов или даже штаммов целевых микроорганизмов, в том числе резистентных [9]. В Российской Федерации выявлен достаточно высокий уровень фагочувствительности MDR-штаммов *K. pneumoniae* к очищенному фагу клебсиелл пневмонии производства НПО «Микроген», составляющий около 50 % [10]. В условиях быстрого распространения экстремальной антибиотикорезистентности среди бактерий использование бактериофагов может стать альтернативой антибиотикотерапии. Фаготерапия может проводиться как монотерапия для лечения инфекций, вызванных панрезистентными возбудителями. Бактериофаги могут также использоваться в сочетании с антибиотиками в комбинированной терапии инфекций, вызванных антибиотикорезистентными бактериями [11, 12].

Существенной проблемой является устойчивость бактерий к фагам, которая может быть первичной и вторичной (приобретенной), что способно существенно снизить эффективность фаготерапии. Вторичная устойчивость часто наблюдается даже в случае достаточной литической активности фагопрепарата *in vitro*, что

выражается в появлении отдельных бактериальных колоний в зоне негативных фаговых колоний [13]. Механизмы бактериальной резистентности к фагам включают в себя нарушение процессов адсорбции в результате потери специфических рецепторов на поверхности бактериальной клетки или их блокировки капсульными экзополисахаридами, нарушение «инъекции» фагового генома, устойчивость бактерий к суперинфекции аналогичными фагами. Также одним из наиболее интересных результатов последних лет стало выявление и описание CRISPR/cas-системы — своего рода иммунной системы у прокариот, с помощью которой бактерия в состоянии «запоминать» историю своей прежней встречи с фагом и разрушать его генетический материал [14, 15].

Цель исследования

Оценить чувствительность клинических изолятов *K. pneumoniae* с различными уровнями антибиотикорезистентности к коммерческим препаратам бактериофагов.

Материалы и методы

В исследование включены 109 клинических изолятов *K. pneumoniae*, выделенных в 2012–2015 гг. от госпитализированных пациентов в лечебных учреждениях трех регионов Беларуси (г. Гомель — 72 изолята, г. Минск — 24 изолята, г. Могилев — 13 изолятов). Все изоляты были

выделены из различных видов клинического материала: мокроты, крови, раневого отделяемого, экссудатов, интраоперационного материала, мочи — в диагностически значимых количествах. Клинический материал отбирался у пациентов только в случае наличия у них клинически и лабораторно подтвержденного инфекционного процесса соответствующей локализации. Повторные штаммы, выделенные от одного пациента, исключались. Первичная идентификация изолятов выполнена в локальных микробиологических лабораториях с использованием ручных коммерческих тест-систем API 20E (энтеробактерии) и API 20NE (грамотрицательные неферментирующие бактерии), произведенных компанией «bioMérieux», Франция, а также с использованием автоматических микробиологических анализаторов VITEK 2 Compact на идентификационных картах VITEK 2 GN («bioMérieux», Франция). Реидентификация изолятов выполнена методом матричной лазерной времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI — TOF) на анализаторе VITEK MS («bioMérieux», Франция).

В исследование включены фаговые препараты производства НПО «Микроген», Российская Федерация, с заявленной активностью против клебсиелл. Информация о фагопрепаратах представлена в таблице 1.

Таблица 1 — Препараты бактериофагов и спектр их активности

№ п/п	Название препарата	Форма выпуска	Серия и дата изготовления	Производственная площадка	Спектр активности
1.	Бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный	флаконы 20 мл	Серия У15 (01/2014)	г. Уфа	<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Klebsiella ozaenae</i>
2.	Пиобактериофаг поливалентный очищенный	флаконы 20 мл	Серия У33 (04/2014)	г. Уфа	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Enterococcus spp.</i> , <i>Escherichia coli</i> (ЭПКП)
3.	Секстафаг	флаконы 500 мл	Серия 688 (02/04/2014)	г. Пермь	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Enterococcus spp.</i> , <i>Escherichia coli</i> (ЭПКП), <i>Klebsiella oxytoca</i>

Чувствительность клебсиелл к семи антибактериальным препаратам (амоксцициллину-клавуланату, азтреонаму, цефотаксиму, имипенему, меропенему, ципрофлоксацину, амикацину) определяли диско-диффузионным ме-

тодом на агаре Мюллера-Хинтона («Becton Dickinson», США). Использовали стандартные картонные диски для определения чувствительности (BD Sensi-Disc Susceptibility Test Discs, «Becton Dickinson», США). Качество

исследований контролировали штаммами *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. При выполнении исследований, учете и интерпретации результатов руководствовались стандартами EUCAST [16].

Для изолятов *K. pneumoniae* с выявленной диско-диффузионным методом нечувствительностью (устойчивостью или умеренной устойчивостью) хотя бы к одному из карбапенемов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени осуществлялась детекция генов карбапенемаз KPC, OXA-48 (диагностический набор «АмплиСенс MDR KPC/OXA-48-FL», ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Российская Федерация) и МБЛ групп VIM, IMP, NDM (диагностический набор «АмплиСенс MDR MBL-FL», ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Российская Федерация). Экстракцию ДНК бактериальных культур, амплификацию с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» на амплификаторе «RotorGene 3000» («Corbett Research», Австралия), анализ и интерпретацию полученных результатов выполняли в соответствии с инструкциями производителя диагностических наборов.

Определение диапазона действия бактериофагов в отношении клинических изолятов

микроорганизмов проводилось капельным методом [17]. Для приготовления инокулюма использовали чистые суточные бактериальные культуры, выращенные на скошенном мясопептонном агаре. В центрифужную пробирку с 5 мл изотонического раствора хлорида натрия стерильным хлопковым тампоном вносили необходимое количество бактериальной культуры до оптической плотности 0,5 по МакФарланду (контроль с помощью денситометра), соответствующей $1,5 \times 10^8$ микробных клеток/мл. Инокуляцию проводили хлопковым тампоном. Инокулюм наносили на поверхность среды частыми штриховыми движениями в трех направлениях, поворачивая чашку Петри на 60°. После инокуляции чашки подсушивали в течение 30–60 мин при комнатной температуре, накрыв их стерильными бумажными фильтрами. На подсушенную поверхность пипеткой по шаблону наносились препараты бактериофагов в объеме 20 мкл. Чашки повторно подсушивали 15–30 мин, закрывали, переворачивали и инкубировали 18–20 ч при температуре 37 °С.

Учет степени лизиса выполняли по четырехкrestной системе (рисунок 1). Результаты от 3+ до 4+ учитывали как положительные реакции. Исследование проводили в трех повторах.

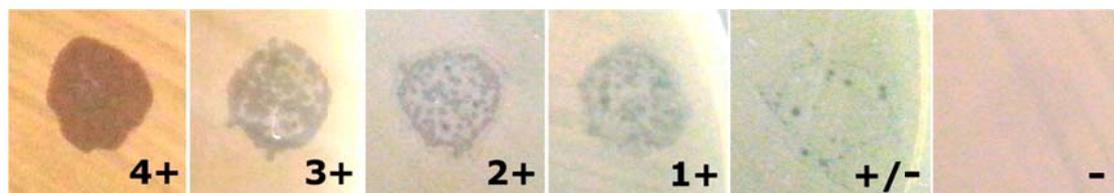


Рисунок 1 — Учет степени лизиса бактериальных изолятов препаратами бактериофагов:
 4+ — сливной (полный) лизис; 3+ — полусливной лизис, рост культуры в зоне лизиса;
 2+ — наличие в месте нанесения капли фага свыше 50 колоний фага (пятен лизиса);
 1+ — наличие в месте нанесения капли фага от 20 до 50 колоний фага;

+/- — наличие в месте нанесения капли фага менее 20 колоний фага; - — полное отсутствие лизиса

Результаты и обсуждение

Результаты определения антибиотикочувствительности изолятов *K. pneumoniae* представлены на рисунке 2. Наибольшей активностью обладали карбапенемы (73,4 % изолятов, чувствительных к

имипенему, и 69,7 % изолятов, чувствительных к меропенему). Чувствительность к амикацину сохраняли 48,6 % изолятов. Уровни чувствительности к другим антибактериальным препаратам были значительно ниже и не превышали 25 %.

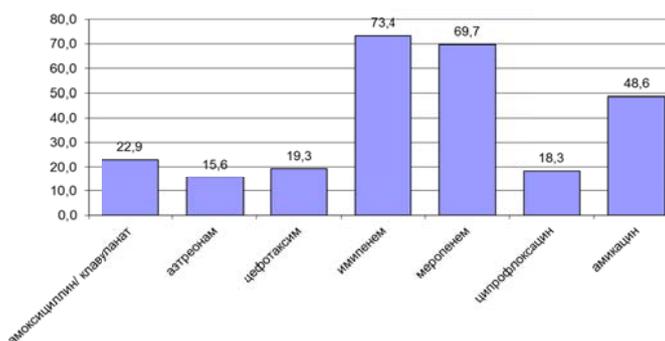


Рисунок 2 — Антибиотикочувствительность клинических изолятов *K. pneumoniae* (процент чувствительных изолятов)

Выявлено 24 (22,0 %) экстремально-антибиотикорезистентных изолята *K. pneumoniae*, нечувствительных ко всем тестируемым антибиотикам. Преобладающими профилями антибиотикорезистентности являлись профили АМС АТМ СТХ СР (нечувствительность к амоксициллин/клавуланату, азтреонаму, цефотаксиму и ципрофлоксацину — 22,9 % изолятов), АМС АТМ СТХ СР АН (нечувствительность к амоксициллин/клавуланату, азтреонаму, цефотаксиму, ципрофлоксацину и амикацину — 19,3 % изолятов) и АМС АТМ СТХ ІМР МЕМ СР АН (нечувствительность ко всем тестируемым препаратам — 22,0 % изолятов).

Для 17 карбапенеморезистентных изолятов *K. pneumoniae* (15,6 %) методом ПЦР выявлено наличие blaNDM-генов. Все продуценты NDM-карбапенемазы имели устойчивость ко всем включенным в исследование антибиотикам.

Наличие генов blaOXA-48 подтверждено для 10 изолятов (9,2 %), 8 из них имели полную устойчивость к антибиотикам, 2 — сохраняли чувствительность к амикацину или ципрофлоксацину. Таким образом, показано, что экстремальная антибиотикорезистентность *K. pneumoniae* ассоциирована с продукцией карбапенемаз.

Наиболее широким спектром активности в отношении клинических изолятов *K. pneumoniae* обладал препарат «Секстафаг» (г. Пермь), который лизировал с активностью «3+» или «4+» 28,4 % изолятов клебсиелл. Препарат «Бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный» обладал несколько меньшей активностью (22,0 % чувствительных изолятов), минимальная активность (16,5 % чувствительных изолятов) выявлена для препарата «Пиобактериофаг поливалентный очищенный» (таблица 2).

Таблица 2 — Спектр литической активности препаратов бактериофагов в отношении *K. pneumoniae*

Активность	Бактериофаг клебсиелл (г. Уфа)		Пиобактериофаг (г. Уфа)		Секстафаг (г. Пермь)	
	n	%	n	%	n	%
«4+»	9	10,7	10	11,9	19	22,6
«3+»	15	17,9	8	9,5	12	14,3
«2+»	12	14,3	5	6,0	7	8,3
«1+»	8	9,5	7	8,3	3	3,6
«+/-»	22	26,2	25	29,8	8	9,5
«->»	43	51,2	54	64,3	60	71,4
Всего чувствительных	24	22,0	18	16,5	31	28,4
Всего устойчивых	85	78,0	91	83,5	78	71,6

В целом отмечена недостаточная активность коммерческих препаратов бактериофагов, что не позволяет рекомендовать их использование для эмпирической терапии клебсиеллезных инфекций. Фаготерапия могла бы стать возможной альтернативой для лечения инфекций, вызванных экстремально антибиотикорезистентными штаммами клебсиелл. В этой связи проведен сравнительный анализ чувствительности к препаратам бактериофагов для антибиотикочувствительных изолятов *K. pneumoniae* (имеющих чувствительность к 4 или более из 7 протестированных антибактериальных препара-

тов) и экстремально-антибиотикорезистентных изолятов – продуцентов карбапенемаз. Результаты представлены на рисунке 3. Препаратом «Секстафаг» с высокой интенсивностью (3+ или 4+) лизировались 8 из 17 продуцентов карбапенемазы NDM (47,1 %) и 2 из 10 продуцентов карбапенемазы OXA-48 (20,0 %). Препаратами «Бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный» и «Пиобактериофаг поливалентный очищенный» лизировались с высокой интенсивностью только 2 экстремально-антибиотикорезистентных изолята (оба — продуценты карбапенемазы OXA-48).

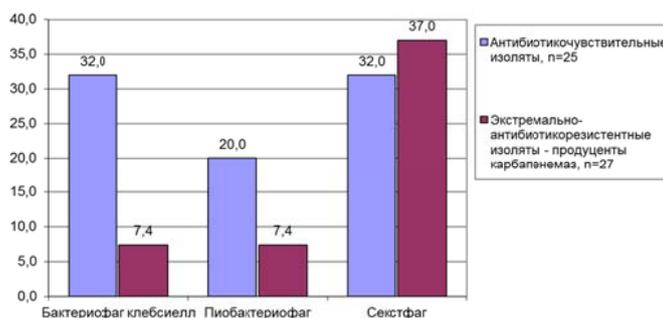


Рисунок 3 — Чувствительность к препаратам бактериофагов клинических изолятов *K. pneumoniae* с различными уровнями антибиотикорезистентности (процент фагочувствительных изолятов с активностью лизиса «3+» или «4+»)

Для «Бактериофага клебсиелл поливалентного очищенного» и «Пиобактериофага поливалентного очищенного» выявлены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия в способности лизировать антибиоточувствительные изоляты *K. pneumoniae* и экстремально-антибиотикорезистентные изоляты — продуценты карбапенемаз NDM и OXA-48. Учитывая очевидно недостаточную активность исследуемых фаговых препаратов в отношении XDR-изолятов, следует акцентировать внимание на гораздо более высокой литической активности «Секстафага» (37,0 % чувствительных изолятов) по сравнению с двумя другими включенными в исследование препаратами.

Важным условием эффективности фаготерапии необходимо считать оценку фагочувствительности (фаголизабельности) выделенной из клинического материала пациента чистой культуры с целью индивидуального подбора препарата для эффективной элиминации предполагаемого возбудителя. Также следует учитывать позитивное воздействие ряда факторов иммунной системы на исход фаготерапии и, соответственно, большую литическую активность бактериофагов *in vivo*, что подтверждается в исследованиях Roach D. R. и соавт. о роли «фагово-нейтрофильного синергизма» в благоприятных исходах пневмонии на мышинных моделях [18]. В ряде стационаров у исследованных штаммов *Klebsiella spp.* были обнаружены многочисленные фагоопосредованные гены вирулентности и было продемонстрировано, что штаммы с наличием данных генов характеризуются высокой устойчивостью к антибиотикам [19]. Не исключено, что некоторые тестируемые нами клинические изоляты также были лизогенизированы и, соответственно, устойчивы к фаговой суперинфекции.

Заключение

Показано широкое распространение множественной и экстремальной антибиотикорезистентности среди клинических изолятов *K. pneumoniae*. Экстремальная антибиотикорезистентность ассоциирована с продукцией карбапенем-гидролизующих ферментов NDM и OXA-48. Показано, что спектр литической активности «Бактериофага клебсиелл поливалентного очищенного» и «Пиобактериофага поливалентного очищенного» существенно ниже в отношении экстремально антибиотикорезистентных изолятов по сравнению с антибиоточувствительными бактериями.

Препараты бактериофагов можно рассматривать как возможную альтернативу антибиотикам для лечения местных форм инфекций, вызванных экстремально антибиотикорезистентными изолятами *K. pneumoniae*, однако обязательным условием эффективной фаготерапии явля-

ется предварительное определение фагочувствительности возбудителя. Необходимо дополнить состав выпускаемых препаратов фаговыми штаммами, активными в отношении изолятов клебсиелл, продуцирующих карбапенемазы. При проведении микробиологического исследования следует выполнять одновременное тестирование нескольких потенциально эффективных в отношении конкретного микроорганизма коммерческих препаратов бактериофагов, что обусловлено существенными различиями в их качественном и количественном составе.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Enterobacteriaceae в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» 2013–2014 / М. В. Сухорукова [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2017. — № 1. — С. 49–56.
2. Продукция карбапенемаз нозокомиальными штаммами в Санкт-Петербурге / Е. П. Баранцевич, Н. Е. Баранцевич, Е. В. Шляhto // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2016. — № 3. — С. 196–199.
3. Металло-бета-лактамазы и карбапенемазы экстремально-антибиотикорезистентных энтеробактерий: распространение в Беларуси / Д. В. Тапальский [и др.] // Здоровоохранение. — 2017. — № 3. — С. 40–47.
4. Тапальский, Д. В. Карбапенемазы грамотрицательных бактерий: распространение и методы детекции / Д. В. Тапальский, В. А. Осипов, С. В. Жаворонок // Медицинский журнал. — 2012. — № 2. — С. 10–15.
5. Woodford, N. Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance / N. Woodford, J. F. Turton, D. M. Livermore // FEMS Microbiology Reviews. — 2011. — Vol. 35. — P. 736–755.
6. Genomic definition of hypervirulent and multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* clonal groups / S. Bialek-Davenet [et al.] // Emerg. Infect. Dis. — 2014. — Vol. 20. — P. 1812–1820.
7. Эффективность бактериофага KpV289 при лечении острой пневмонии и инфекции бедра, вызванных *Klebsiella pneumoniae*, у мышей / А. И. Борзилов [и др.] // Инфекционные болезни. — 2017. — № 3. — С. 48–58.
8. Черненко, Т. В. «Проблемные» полирезистентные бактерии — возбудители внутрибольничных инфекций у пациентов в критических состояниях (обзор литературы) / Т. В. Черненко, М. А. Гудков. // Неотложная медицинская помощь. — 2015. — № 3. — С. 30–35.
9. Experimental phage therapy in treating *Klebsiella pneumoniae*-mediated liver abscesses and bacteremia in mice / C. H. Hung [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. — 2011. — Vol. 55(4). — P. 1358–1365.
10. Исследование антибиотико- и фагочувствительности нозокомиальных штаммов микробов, выделенных от пациентов трансплантологической клиники / Н. И. Габриэлян [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. — 2011. — № 3. — С. 26–32.
11. Phage therapy: a potential alternative in the treatment of multidrug-resistant bacterial infections / O. S. Adebayo [et al.] // Journal of microbiology and Experimentation. — 2017. — Vol. 5. — P. 1–4.
12. Loc-Carrillo, C. Pros and cons of phage therapy / C. Loc-Carrillo, S. T. Abedon // Bacteriophage. — 2011. — Vol. 1. — P. 111–114.
13. Тапальский, Д. В. Препараты бактериофагов и комбинаций антибиотиков: *in vitro* активность в отношении изолятов *Pseudomonas aeruginosa* ST235 с экстремальной антибиотикорезистентностью / Д. В. Тапальский // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2016. — № 4. — С. 242–248.
14. Hyman, P. Bacteriophage host range and bacterial resistance / P. Hyman, S. T. Abedon // Adv. Appl. Microbiol. — 2010. — Vol. 70. — P. 217–248.
15. Зурабов, А. Ю. Снова о фаготерапии: что не так, а что так? / А. Ю. Зурабов, Е. Л. Жиленков, В. М. Попова // Медицинский совет. — 2016. — № 16. — С. 44–50.
16. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diam-

eters. Version 7.1. — 2017. — Режим доступа: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/.

17. Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике. Федеральные клинические рекомендации. — М., 2014. — 39 с.

18. Synergy between the Host Immune System and Bacteriophage Is Essential for Successful Phage Therapy against an Acute

Respiratory Pathogen / D. R. Roach [et al.] // Cell Host Microbe. — 2017. — Vol. 22. — P. 38–47.

19. Эпидемиологические особенности формирования патогенных свойств *Klebsiella spp.* и *Pseudomonas spp.* в урологическом стационаре / Б. И. Асланов [et al.] // Профилактическая и клиническая медицина. — 2012. — № 3(44). — С. 50–54.

Поступила 12.02.2018

УДК 616.36-004

ТОКСИКО-АЛИМЕНТАРНАЯ МОДЕЛЬ ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ У КРЫС

Б. Б. Осипов, А. Н. Лызилов, А. Г. Скуратов, А. А. Призенцов

Учреждение образования
«Гомельский государственный медицинский университет»,
г. Гомель, Республика Беларусь

Цель: разработать экспериментальную модель цирроза печени у крыс и сравнить ее с тетрахлорметановой моделью поражения печени.

Материалы и методы. В качестве объекта для моделирования цирроза печени использовались белые крысы-самцы линии Wistar ($n = 30$). Моделирование проводили по разработанной токсико-алиментарной методике (экспериментальная группа, $n = 15$) и путем введения тетрахлорметана (контрольная группа, $n = 15$). Животных выводили в разные сроки (через 8, 12 недель от начала моделирования и через 3 месяца после прекращения моделирования) и изучали морфологическую морфометрическую картину печени.

Результаты. Разработанная токсико-алиментарная модель поражения печени приводит к развитию цирроза печени через 8 недель от начала моделирования (воспроизводимость — 93,3 %). При использовании тетрахлорметановой модели воспроизводимость цирроза печени через 8 недель составляет 26,7 %, что подтверждается статистически меньшей толщиной соединительнотканых септ в контрольной группе по сравнению с экспериментальной ($p = 0,016$, критерий Манна-Уитни). Разработанная модель обеспечивает сокращение времени моделирования (с 12 недель в контрольной группе до 8 недель в экспериментальной) цирроза печени, а также меньшую обратимость признаков цирроза печени через 3 месяца по сравнению с тетрахлорметановой моделью цирроза печени.

Заключение. Разработанная токсико-алиментарная модель поражения печени приводит к развитию цирроза печени через 8 недель от начала моделирования. Разработанная модель обеспечивает сокращение времени моделирования цирроза печени, повышение воспроизводимости, а также меньшую обратимость признаков цирроза печени через 3 месяца по сравнению с тетрахлорметановой моделью цирроза печени.

Ключевые слова: цирроз печени, экспериментальная модель, тетрахлорметан, соединительнотканые септы, морфометрия.

TOXIC-ALIMENTARY MODEL OF LIVER CIRRHOSIS IN RATS

B. B. Osipov, A. N. Lyzikov, A. G. Skuratov, A. A. Prizentsov

Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus

Objective: to design an experimental model of liver cirrhosis in rats and to compare it with the carbon tetrachloride model of liver injury.

Material and methods. White Wistar rats ($n = 30$) were used as objects for modeling of toxic liver injury. The modeling was performed by the designed toxic-alimentary method (experimental group, $n = 15$) and by means of the carbon tetrachloride injection (control group, $n = 15$). The animals were sacrificed at different terms (8, 12 weeks after start of the modeling and 3 months after termination of the modeling), and the morphological and morphometric state of the liver was studied.

Results. The designed toxic-alimentary model of liver injury leads to liver cirrhosis 8 weeks after start of the modeling (reproducibility — 93.3 %). The reproducibility of liver cirrhosis in case of using the carbon tetrachloride model 8 weeks after start of the modeling is 26.7 %, which is proved by statistically lower thickness of connective-tissue septa in the liver in the control group in comparison with the experimental group ($p = 0.016$, Mann Whitney U test). The designed toxic-alimentary method ensures shorter timing of the modeling of liver cirrhosis (from 12 weeks in the control group to 8 weeks in the experimental group) and also lower reversibility of liver fibrosis signs 3 months after termination of the modeling in comparison with the carbon tetrachloride model of liver injury.

Conclusions. The designed toxic-alimentary model of liver injury leads to liver cirrhosis 8 weeks after start of the modeling. The developed model ensures shorter timing of the modeling of liver cirrhosis, increased reproducibility as well as lower reversibility of liver fibrosis signs 3 months after termination of the modeling in comparison with the carbon tetrachloride model of liver injury.

Key words: liver cirrhosis, experimental model, carbon tetrachloride, connective-tissue septa, morphometry.