

Сравнительное изучение антибактериальной активности бактериофага PA5 и полимиксина на модели летальной синегнойной инфекции у мышей

А.И.Борзилов, О.В.Коробова, Т.И.Комбарова, В.П.Мякинина,
В.М.Красильникова, В.В.Верёвкин, Н.В.Воложанцев

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора,
Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Распространение бактерий с множественной лекарственной устойчивостью является серьезной проблемой практического здравоохранения. Эра эффективного использования классических антибиотиков в борьбе с бактериальными инфекциями уходит в прошлое. В настоящее время ведутся интенсивные поиски комбинированной антибиотикотерапии и новых антибактериальных препаратов, альтернативных антибиотикам. Заслуженный интерес у исследователей вызывают бактериофаги – вирусы бактерий, способные лизировать как антибиотикочувствительные, так и антибиотикорезистентные штаммы бактерий. В нашей работе мы исследовали лечебно-профилактическую эффективность литического бактериофага PA5 на двух моделях летальной синегнойной инфекции у мышей линии BALB/c – первичного сепсиса и инфекции мягких тканей бедра. Полученные результаты показали, что при внутривенном введении фага в дозе 10^8 БОЕ в режиме профилактики выживаемость мышей с первичным синегнойным сепсисом достигает 100%. При фаготерапии через 1,5 ч после инфицирования и далее в течение 5 дней лечебный эффект достигался в 70–80% случаев. Использование фага PA5 для профилактики и лечения синегнойной инфекции бедра не дало положительного терапевтического эффекта: все животные, зараженные внутримышечно культурой *P. aeruginosa* PAO1 или *P. aeruginosa* B1304, умирали на 1–6-е сутки. В то же время полимиксин В (10 мг/кг, 2 р/сут, 5 дней) защищал от гибели 100% мышей с первичным сепсисом и инфекцией мягких тканей бедра. Таким образом, по антибактериальной активности *in vivo* бактериофаг PA5 близок к антибиотику полимиксину, но только при профилактике и лечении синегнойного сепсиса у мышей. Фаг PA5 неэффективен при терапии летальной синегнойной инфекции бедра, тогда как антибиотик излечивает 100% мышей, инфицированных культурами штаммов *P. aeruginosa* PAO1 или *P. aeruginosa* B1304.

Ключевые слова: *Pseudomonas aeruginosa*, синегнойная инфекция, мыши, бактериофаги, фаготерапия, полимиксин В

Для цитирования: Борзилов А.И., Коробова О.В., Комбарова Т.И., Мякинина В.П., Красильникова В.М., Верёвкин В.В., Воложанцев Н.В. Сравнительное изучение антибактериальной активности бактериофага PA5 и полимиксина на модели летальной синегнойной инфекции у мышей. Бактериология. 2019; 4(1): 34–43. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-1-34-43

Comparative study of antibacterial activities of bacteriophage PA5 and polymyxin on the model of lethal pseudomonas infection in mice

A.I.Borzilov, O.V.Korobova, T.I.Kombarova, V.P.Myakinina,
V.M.Krasilnikova, V.V.Verevkin, N.V.Volozhantsev

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

The spread of multiple drug resistant bacteria is a serious problem in practical healthcare. The era of effective use of classical antibiotics to combat bacterial infections is a thing of the past. Currently, intensive search for combined antibiotic therapy as well as novel alternative antimicrobials is underway. Of particular scientific interest are bacteriophages, bacterial viruses, capable of lysing both antibiotic-susceptible and -resistant bacterial strains. We studied a therapeutic – and prophylactic effect of the lytic phage PA5 using two models of *Pseudomonas aeruginosa* lethal infection, primary sepsis and femoral soft tissue infection, in BALB/c mice. The preventive *i/p* injection of the phage at 10^8 PFU to mice with *P. aeruginosa* sepsis resulted in the 100% survival of the mice. The 5-day therapeutic injection of the phage provided a therapeutic effect 1.5h after infection in 70–80% of cases. The phage PA5 used for preventing or treating *Pseudomonas aeruginosa* femoral soft tissue infection did

Для корреспонденции:

Борзилов Александр Иосифович, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биологических испытаний ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, п. Оболенск, Серпуховский район, Московская область, ГНЦ ПМБ

Телефон: (4967) 36-0147

E-mail: borzilov@obolensk.org

Статья поступила 27.01.2019 г., принята к печати 25.03.2019 г.

For correspondence:

Alexander I. Borzilov, MD, PhD, leading researcher of the biological testing laboratory, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology

Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation

Phone: (4967) 36-0147

E-mail: borzilov@obolensk.org

The article was received 27.01.2019, accepted for publication 25.03.2019

not produce a positive therapeutic effect, leading to death of all animals i/m infected with *P. aeruginosa* PAO1 or *P. aeruginosa* B1304 culture at day 1 or 6. Meantime polymyxin B (10 mg/kg, twice a day for 5 days) saved mice with sepsis or femoral soft tissue infection in 100% of cases.

Results conclude that the phage PA5 antibacterial activity *in vivo* is similar to that of polymyxin, but just in preventing and treating *Pseudomonas aeruginosa* sepsis in mice. The phage is ineffective in treating *Pseudomonas aeruginosa* lethal femoral infection, while the antibiotic cures mice infected with *P. aeruginosa* PAO1 or *P. aeruginosa* B1304 cultures in 100% of cases.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas aeruginosa* infection, mice, bacteriophages, phage therapy, polymyxin B

For citation: Borzilov A.I., Korobova O.V., Kombarova T.I., Myakinina V.P., Krasilnikova V.M., Verevkin V.V., Volozhantsev N.V. Comparative study of antibacterial activities of bacteriophage PA5 and polymyxin on the model of lethal pseudomonas infection in mice. Bacteriology. 2019; 4(1): 34–43. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2019-1-34-43

Грамотрицательные бактерии *Pseudomonas aeruginosa* являются одной из основных причин внутрибольничных инфекций [1]. Они способны вызывать как локализованные, так и системные инфекции, включая гнойные воспаления ожоговых ран, пневмонию, абдоминальные инфекции, хронические язвы и сепсис [2–5]. Наибольшему риску синегнойной инфекции подвержены люди с иммунодефицитом [1]. Наиболее часто синегнойная инфекция встречается в отделениях интенсивной терапии, где ее доля среди бактериальных инфекций составляет от 8 до 20% [2–4]. По некоторым данным, *P. aeruginosa* является причиной 16% нозокомиальных пневмоний, 10% инфекций мочевыводящих путей, 10% послеоперационных инфекций и 4% бактериемий [5]. Этиотропная терапия инфекций, вызываемых синегнойной палочкой, включает, как правило, использование β -лактамов, аминогликозидов, фторхинолонов, макролидов и колистина [6–9]. Широкое использование различных антибактериальных препаратов нередко приводит к появлению штаммов *P. aeruginosa*, устойчивых к лекарственным средствам [10–14], что затрудняет лечение синегнойной инфекции и ухудшает ее прогноз. Способность бактерий *P. aeruginosa* формировать биопленки также снижает эффективность антибиотикотерапии [15, 16].

В связи с этим в настоящее время ведутся поиск эффективных схем комбинированного применения антибиотиков и разработка новых антипсевдомонадных препаратов, альтернативных антибиотикам [12, 17–19]. Одной из перспективных альтернатив антибиотикам являются вирусы бактерий (бактериофаги). В научных источниках встречается много сообщений о положительных результатах применения литических бактериофагов для профилактики и лечения различных инфекций у лабораторных животных [20–24], в том числе вызываемых синегнойной палочкой [25–27].

Для оценки лечебной эффективности антибактериальных средств, направленных против *P. aeruginosa*, используют различные животные модели синегнойной инфекции. Одной из наиболее популярных является модель экспериментальной легочной инфекции мышей [17, 28–30]. В качестве экспериментальных животных используют инбредных и аутбредных иммунокомпетентных или иммунодепрессивных мышей. В качестве возбудителя экспериментальной синегнойной легочной инфекции часто выбирают общеизвестный штамм *P. aeruginosa* PAO1 или какой-либо клинический штамм. Заражающая доза патогена варьирует от 5×10^6 до 5×10^8 КОЕ.

Некоторые авторы описывают и успешно применяют на практике модели раневой синегнойной инфекции [31] и синегнойной инфекции мягких тканей бедра [30, 32–34]. Для моделирования термической раны кожных покровов используют иммунокомпетентных животных, для воспроизведения инфекции бедра – мышей с индуцированной лейкопенией. Инфицированную рану кожных покровов получают путем аппликации культуры патогена на ожоговую поверхность. Инфекцию бедра воспроизводят путем введения культуры синегнойной палочки в бедренную мышцу мышей в дозе 5×10^5 – 5×10^6 КОЕ.

Эффективность противопсевдомонадных препаратов тестируют и на модели летального сепсиса у мышей [35]. Для подавления иммунитета мышам вместе с культурой патогена внутрибрюшинно вводят 5% муцин. В этом случае клетки *P. aeruginosa* быстро диссеминируют в организме подопытных животных, колонизируя паренхиматозные органы и вызывая бактериемию. Животные погибают в течение трех суток после заражения. Сепсис моделируют и на иммунокомпетентных мышах, однако в этом случае используют более вирулентные клинические штаммы, а заражающую дозу *P. aeruginosa* увеличивают до 10^7 КОЕ [36].

Цель работы – изучить антибактериальную активность *in vivo* бактериофага PA5 в экспериментах по лечению острого синегнойного сепсиса и синегнойной инфекции бедра у мышей, вызываемых культурами штаммов *P. aeruginosa* PAO1 и *P. aeruginosa* B1304.

Материалы и методы

Бактериальные культуры

Для моделирования экспериментальной синегнойной инфекции использовали культуры штаммов *P. aeruginosa* из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» – PAO1 (кат. № В-168) и B1304 (кат. № В-7708). Оба штамма чувствительны *in vitro* к цефтазидиму, цефепиму, имипенему, гентамицину, ципрофлоксацину и полимиксину В. *P. aeruginosa* B1304 устойчив к цефотаксиму и доксициклину. Штамм *P. aeruginosa* PAO1 обладал промежуточной устойчивостью к цефотаксиму, амикацину и был нечувствителен к доксициклину.

Питательные среды, антибиотики

Для культивирования штаммов синегнойной палочки использовали плотную питательную среду №1 ГРМ производства ФБУН ГНЦ ПМБ.

LB-бульон (Hi-Media, Индия) использовали для наработки бактериофага PA5.

Веллобактин-В/Полимиксин-В («Бхарат Сирамс энд Ваксинс Лимитед», Индия) использовали в качестве эффективного антибиотика в экспериментах по лечению экспериментальной синегнойной инфекции.

Выделение бактериофага PA5

Препарат бактериофага PA5 готовили из лизата бульонной культуры штамма *P. aeruginosa* 1304. Культуру синегнойных бактерий выращивали в LB-бульоне при температуре 37°C до логарифмической фазы роста. Затем добавляли бактериофаг в соотношении 1:10 по объему и продолжали инкубировать до полного просветления культуры. В фаголизат вносили хлористый натрий до концентрации 1 М, инкубировали 2 ч в водяной бане при температуре 0°C и центрифугировали (15 000 ×g, 10 мин при температуре 4°C). В супернатант добавляли полиэтиленгликоль (ПЭГ) 8000 до концентрации 10% и инкубировали 2 ч в водяной бане при температуре 0°C. Бактериофаги осаждали центрифугированием при 39 000 ×g в течение 10 мин при температуре 4°C. Осадок тщательно высушивали при комнатной температуре и суспендировали в физиологическом растворе. Титр фаговых частиц в препарате определяли методом Грациа [37].

Лабораторные животные

В экспериментах *in vivo* в качестве модельных животных использовали белых мышей линии BALB/c (самцы/самки, 18–22 г), выращенных в питомнике ФБУН ГНЦ ПМБ. Животных содержали в стандартных условиях в соответствии с международными нормами и требованиями. Мыши имели свободный доступ к воде и корму (ООО «Лабораторкорм», Москва).

Животных размещали в поликарбонатных клетках Lab Products Inc. (США) группами не более шести особей в каждой и проводили ежедневное ветеринарное наблюдение за ними.

Моделирование синегнойного сепсиса у мышей

Бактериальные культуры готовили на физиологическом растворе, содержащем 2,5% муцин. Заражающие дозы штаммов PAO1 и B1304 составляли 10 ЛД₅₀, что соответствовало ~8 × 10⁴ КОЕ и ~6 × 10⁵ КОЕ. Взвеси штаммов *P. aeruginosa* вводили мышам внутрибрюшинно в объеме 0,5 мл.

Моделирование синегнойной инфекции мягких тканей бедра у мышей

Бедренную синегнойную инфекцию воспроизводили на мышцах линии BALB/c с индуцированным иммунодефицитом. Для этого животным дважды вводили циклофосфамид (100 мг/кг, внутрибрюшинно) за 4 и 1 сут до заражения. Инокуляты культур синегнойной палочки вводили внутримышечно (в левое бедро) в дозе 30 ЛД₅₀: 3,3 × 10⁵ КОЕ штамма *P. aeruginosa* PAO1 и 1,9 × 10⁵ КОЕ штамма *P. aeruginosa* B1304. Вводимый объем инокулята – 50 мкл.

Бактериологический анализ биологических образцов

Обсемененность органов и тканей мышей бактериями *P. aeruginosa* определяли количественным методом с подсчетом числа клеток патогена в 1 г/мл образца. Для этого животных эвтаназируют углекислым газом, затем вскрывали в асептических условиях и отбирали печень и селезенку целиком. Паренхиматозные органы взвешивали, а затем

перетирали пестиком в стерильных фарфоровых ступках с добавлением кварцевого песка. В гомогенизаты добавляли стерильный физиологический раствор (1–3 мл) и перемешивали до получения однородной суспензии. Полученные суспензии (цельные и их десятикратные разведения) высеивали на поверхность плотной питательной среды. Образцы крови получали пункцией сердца эвтаназированных животных и смешивали с 3,7% цитратом натрия в соотношении 3:1. Кровь высеивали на питательный агар *ex tempore*. Посевы инкубировали при температуре 37°C в течение 24 ч.

Лечение экспериментального синегнойного сепсиса

Мышей линии BALB/c, инфицированных внутрибрюшинно культурами штаммов *P. aeruginosa* PAO1 и *P. aeruginosa* B1304, рандомизировали на равные экспериментальные и контрольные группы по 10 животных в каждой. Мышам из первой экспериментальной группы вводили бактериофаг PA5 внутрибрюшинно однократно в количестве 5 × 10⁸ БОЕ за 1 ч до заражения (группа профилактики). Вторая группа животных получала препарат фага в той же дозе дважды в день на протяжении 5 сут. Лечение начинали через 1,5 ч после заражения синегнойной инфекцией. Третьей группе животных назначали подкожные инъекции полимиксина в дозе 10 мг/кг дважды в сутки. Лечение начинали через 1,5 ч после инфицирования и продолжали в течение 5 дней. Контрольная группа животных никаких антибактериальных препаратов не получала.

Наблюдение за животными вели в течение 14 дней с момента заражения, отмечая случаи гибели животных. В конце указанного срока выживших мышей исследовали на носительство бактерий *P. aeruginosa* PAO1 и *P. aeruginosa* B1304.

Лечение экспериментальной синегнойной инфекции бедра

Мышей линии BALB/c с индуцированным иммунодефицитом и инфицированных в левое бедро культурами *P. aeruginosa* PAO1 или *P. aeruginosa* B1304 делили на 4–5 экспериментальных групп случайным образом. Животные из 1-й группы за 1 ч до инфицирования однократно внутрибрюшинно получали фаг PA5 в дозе 1 × 10⁸ БОЕ (группа профилактики). Животных из 2-й группы начинали лечить бактериофагом PA5 через 1,5 ч после заражения дважды в день в течение 5 сут. Разовая доза фага составляла 1 × 10⁸ БОЕ внутрибрюшинно. Мышам из 3-й группы давали фаг PA5 по той же схеме, но препарат вводили подкожно (только в случае штамма *P. aeruginosa* B1304). Бактериофаг вводили внутрибрюшинно в объеме 0,5 мл, а подкожно – 0,2 мл. Животным из 4-й группы в течение 5 дней после заражения назначали полимиксин В (10 мг/кг) дважды в сутки подкожно в объеме 0,2 мл. Контрольная группа мышей не получала антибактериальных препаратов. В течение 2 нед после заражения контролировали гибель животных в группах. В конце эксперимента оценивали обсемененность паренхиматозных органов выживших животных бактериями *P. aeruginosa* PAO1 и *P. aeruginosa* B1304.

Статистические методы

Статистическую обработку результатов (вычисление средних арифметических значений и стандартного отклонения) проводили с использованием статистических ресурсов программы Microsoft Excel 2010 и Statistica 10.

Результаты и обсуждение

Характеристика бактериофага PA5

Бактериофаг PA5 выделен из сточных вод (г. Серпухов, Московская обл.) и депонирован в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» (кат. № Ph-88).

На газоне индикаторных штаммов *P. aeruginosa* фаг образует прозрачные негативные колонии диаметром 1–2 мм. Фаголизат, полученный при размножении бактериофага PA5 на клетках штамма *P. aeruginosa* B1304, устойчив к хлороформу и чувствителен к нагреванию (при температуре 55°C фаговые частицы инактивируются в течение 15 мин). Фаг хорошо сохраняется в лиофильно высушенном состоянии при температуре 4–8°C. Титр бактериофага PA5 при размножении на жидких и плотных питательных средах составляет около 10^{10} бляшкообразующих единиц (БОЕ) в 1 мл фаголизата. Бактериофаг PA5 обладает достаточно широким спектром активности: лизирует около 30% клинических штаммов *P. aeruginosa* ($N = 46$), выделенных в различных стационарах лечебных учреждений (Серпухов, Челябинск, Вологда, Москва).

Определена полная нуклеотидная последовательность генома бактериофага PA5 (GenBank: KY000082). Геном представлен линейной двунитевой ДНК размером 66 182 пары оснований (содержание G/C-пар – 55,5%), включает 101 открытую рамку считывания (ORF), кодирующую 24% белков с предсказанными функциями (структурные белки капсида и хвостового аппарата, ферменты метаболизма ДНК, компоненты системы упаковки ДНК в капсид и лизиса бактериальной клетки) и 76% гипотетических пептидов с неустановленными функциями. В геноме фага не выявлены гены резистентности к антибиотикам и какие-либо известные детерминанты вирулентности бактериальных патогенов. На основании данных секвенирования ДНК и сравнительного геномного анализа бактериофаг PA5 отнесен к вирусам семейства *Myoviridae*, группе неклассифицированных фагов рода *Pbunavirus* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=1913570>).

Развитие летального синегнойного сепсиса у мышей

Результаты изучения динамики развития сепсиса в организме мышей линии BALB/c показали, что уже через 1,5 ч наблюдается интенсивная диссеминация патогена. Концентрация клеток *P. aeruginosa* PAO1 в селезенке, печени и легких составляла в среднем $6,3 \times 10^3$, $6,8 \times 10^3$ и 3×10^3 КОЕ/г соответственно (рис. 1А). В последующие 12 ч уровень обсемененности этих органов бактериями *P. aeruginosa* возрастал на три порядка и достигал значений $6,8 \times 10^6$, $5,1 \times 10^6$ и $2,7 \times 10^6$ КОЕ/г. Бактериемия у инфицированных животных также быстро прогрессировала. Через 1,5 ч после заражения количество клеток синегнойной палочки в 1 мл крови в среднем равнялось 122 КОЕ/мл, а через 12 ч – $1,7 \times 10^5$ КОЕ/мл.

Введение мышам культуры штамма *P. aeruginosa* B1304 также приводило к быстрой диссеминации клеток патогена в организме животных. Через 1,5 ч после инфицирования уровень содержания синегнойной палочки в селезенке, печени и легких составлял $1,8 \times 10^4$, $2,8 \times 10^4$ и $9,2 \times 10^3$ КОЕ/г соответственно (рис. 1Б). По истечении 12 ч экспериментальной инфекции концентрация клеток патогена в этих органах увеличивалась до $1,7 \times 10^7$, $1,3 \times 10^7$ и $1,2 \times 10^7$ КОЕ/г соответственно. Септицемия у инфицированных мышей быстро прогрессировала в период с 1,5 до 12 ч после заражения, возрастая с $1,2 \times 10^3$ до $1,1 \times 10^6$ КОЕ/мл. Все мыши, инфицированные культурой *P. aeruginosa* B1304, погибали в течение суток на фоне выраженного синегнойного сепсиса, что подтверждалось результатами бактериологического исследования.

Эффективность лечения летального синегнойного сепсиса у мышей

Результаты экспериментов по профилактике и лечению летального синегнойного сепсиса у мышей линии BALB/c, обусловленного внутрибрюшинным заражением культурами штаммов *P. aeruginosa* PAO1 и *P. aeruginosa* B1304 в дозе 10 ЛД₅₀, показали высокую специфическую активность бактериофага PA5. При однократном введении фага мышам за час до инфицирования (профилактика) все животные оставались живыми на протяжении всего срока наблюде-

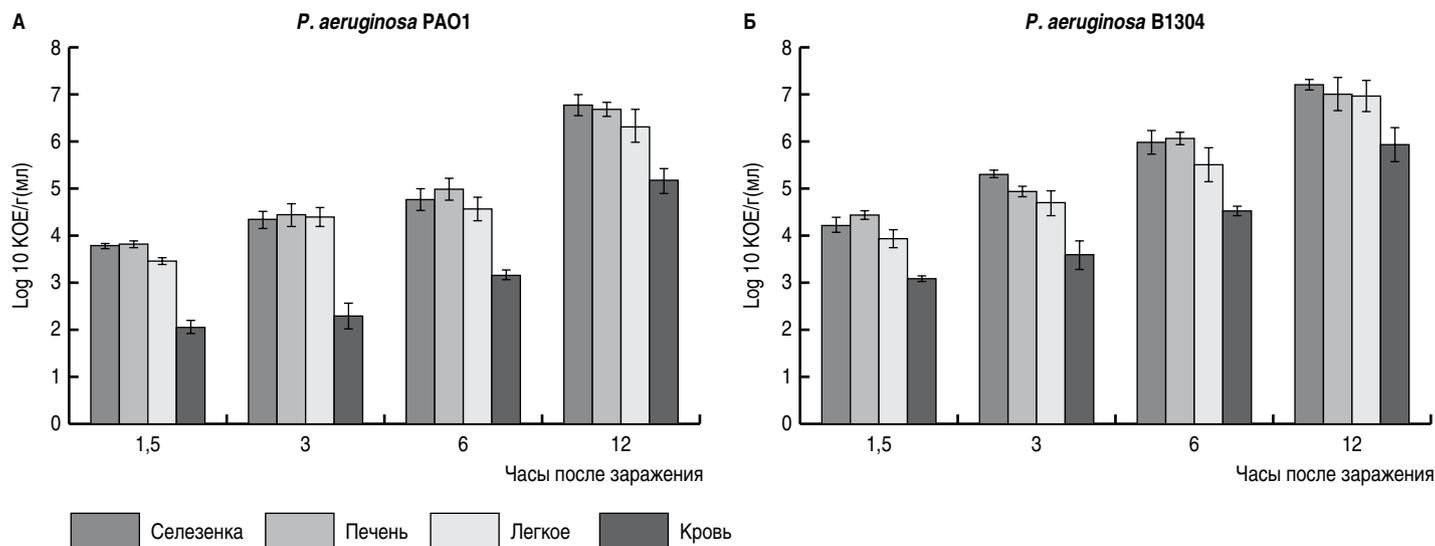


Рис. 1. Динамика колонизации клетками *P. aeruginosa* организма мышей после внутрибрюшинного введения в дозе 10 ЛД₅₀.

ния (рис. 2). В то же время 100% мышей из контрольных групп умирали в течение суток. Все выжившие животные не были носителями бактерий *P. aeruginosa* PAO1 и *P. aeruginosa* B1304. Количественный бактериологический анализ печени, селезенки, легких и крови мышей дал отрицательный результат.

Применение фага PA5 в режиме лечения (начало фаготерапии через 1,5 ч после заражения) оказывало меньший эффект. Фаг защищал от гибели 80% мышей, инфицированных штаммом PAO1, и 70% мышей, зараженных штаммом B1304. Животные погибали в период со вторых по седьмые сутки. В органах погибших мышей была выявлена культура возбудителя синегнойной инфекции. В этих же органах был обнаружен в большом количестве фаг PA5.

В результате лечения бактериофагом PA5 у 4 из 8 выживших мышей была выявлена культура *P. aeruginosa* PAO1 в селезенке и печени. Концентрация клеток патогена в этих органах варьировала от $1,5 \times 10^3$ до $8,1 \times 10^5$ КОЕ/г (таблица). Культура, выделенная из органов мышей, была устойчива к литическому действию бактериофага PA5.

Несмотря на то что фаг PA5 в режиме лечения защищал от гибели только 70% мышей, зараженных штаммом *P. aeruginosa* B1304, он более эффективно санировал организм животных. Все выжившие мыши были свободны от возбудителя экспериментальной инфекции.

Пятидневный курс антибиотикотерапии летального синегнойного сепсиса полимиксином дал абсолютный лечебный результат. Все мыши к концу срока наблюдения были живы и не являлись носителями *P. aeruginosa* PAO1 и *P. aeruginosa* B1304.

Развитие летальной синегнойной инфекции бедра у мышей

Исследование динамики развития данной инфекции на примере штамма *P. aeruginosa* B1304 показало, что распространение клеток патогена в организме мышей начинается через некоторое время после внутримышечного заражения (рис. 3). Бактериологический анализ органов и тканей мышей, проведенный через 1,5 ч после инфицирования, показал наличие патогена только в месте введения. Концентрация клеток *P. aeruginosa* B1304 в месте инъекции в это время составляла 2×10^5 КОЕ/г.

В течение первых 3 ч после заражения инфекция в основном локализовалась в мышечной ткани левого бедра, а затем происходило размножение синегнойной палочки в очаге воспаления, и через 36 ч ее количество в левом бедре достигало в среднем $1,4 \times 10^9$ КОЕ/г.

В селезенке единичные клетки *P. aeruginosa* B1304 были выявлены через 3 ч после инфицирования у 40% мышей, а через 5 ч уже у 100% мышей селезенка была обсеменена возбудителем (от $6,0 \times 10^2$ до $1,4 \times 10^3$ КОЕ/г). Через 1,5 сут

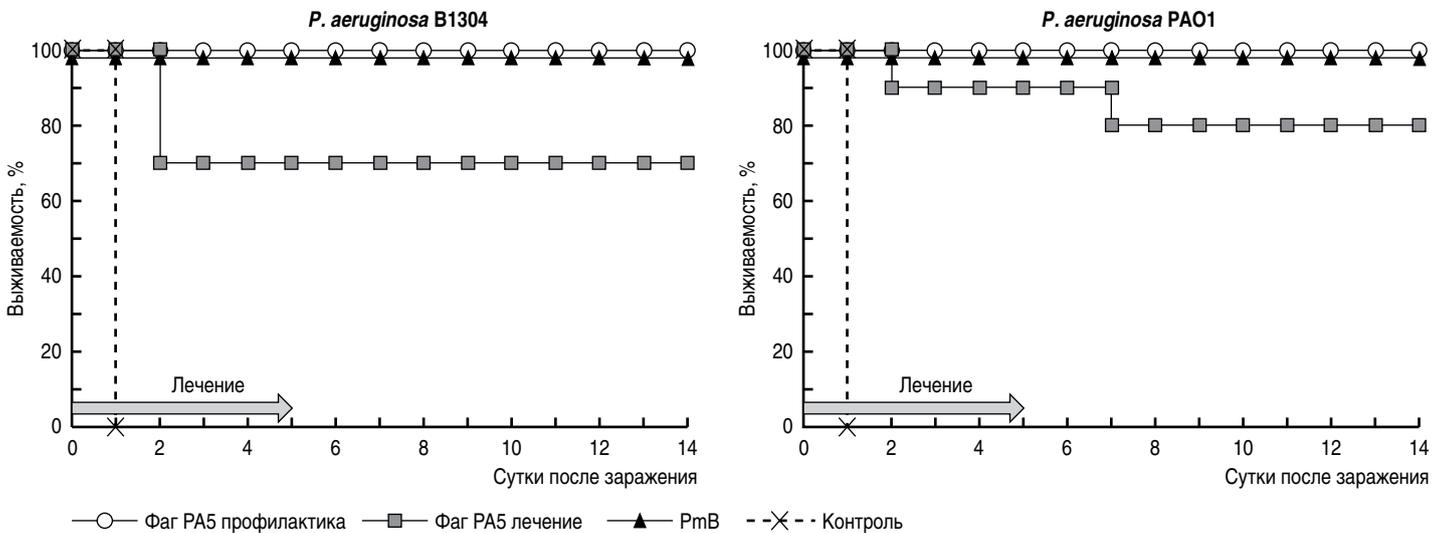


Рис. 2. Эффективность бактериофага PA5 и полимиксина В при терапии экспериментального синегнойного сепсиса у мышей линии BALB/c (n = 10), вызванного внутрибрюшинным введением культур *P. aeruginosa* PAO1 и *P. aeruginosa* B1304 в дозе 10 ЛД₅₀.

Группа	Выжившие, %	Санитарованные, %	Носители <i>P. aeruginosa</i> , %	Количество клеток <i>P. aeruginosa</i> PAO1, LOG 10 КОЕ/г (мл)*			
				селезенка	печень	легкие	кровь
<i>P. aeruginosa</i> PAO1							
PA5, профилактика	100	100	0	0 (10/10)**	0 (10/10)	0 (10/10)	0 (10/10)
PA5, лечение	80	40	40	$4,8 \pm 1,6$ (4/8)	$4,4 \pm 1,7$ (4/8)	0 (8/8)	0 (8/8)
Полимиксин	100	100	0	0 (10/10)	0 (10/10)	0 (10/10)	0 (10/10)
<i>P. aeruginosa</i> B1304							
PA5, профилактика	100	100	0	0 (10/10)**	0 (10/10)	0 (10/10)	0 (10/10)
PA5, лечение	70	70	0	0 (7/7)	0 (7/7)	0 (7/7)	0 (7/7)
Полимиксин	100	100	0	0 (10/10)	0 (10/10)	0 (10/10)	0 (10/10)

*Среднее значение и стандартное отклонение.
 **Соотношение количества мышей с данным результатом бактериологического анализа к общему числу выживших животных.

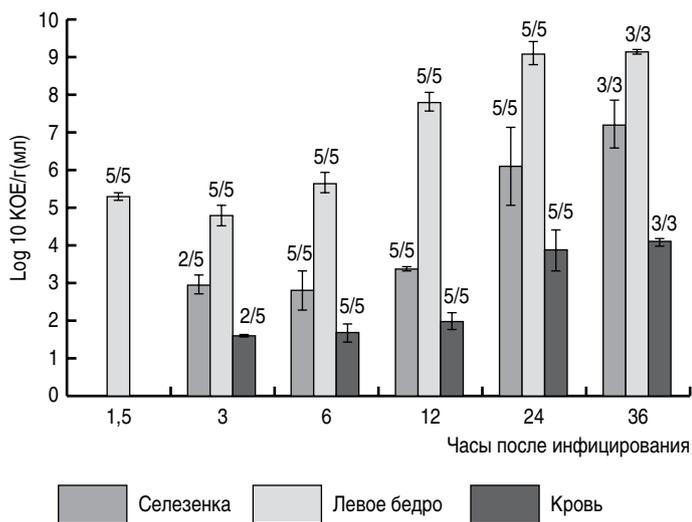


Рис. 3. Диссеминация клеток *P. aeruginosa* B1304 в организме мышей после внутрибрюшинного введения в дозе 30 ЛД₅₀. На диаграмме представлены средние значения и стандартные отклонения концентрации синегнойной палочки в селезенке, мышцах левого бедра и крови инфицированных мышей линии BALB/c. В дробки указано соотношение количества мышей с положительным бактериологическим результатом к общему числу животных в группе.

обсемененность ткани селезенки клетками *P. aeruginosa* B1304 возрастала в среднем до $2,5 \times 10^7$ КОЕ/г.

Бактериемия появлялась у 40% мышей через 3 ч после инфицирования и постепенно нарастала, достигая максимального уровня к 36 ч – $1,2 \times 10^4$ КОЕ/г.

Эффективность лечения летальной синегнойной инфекции бедра у мышей

Хороший лечебно-профилактический эффект бактериофага PA5, полученный при экспериментальной терапии летального синегнойного сепсиса у мышей, не повторился, фаготерапия инфекции мягких тканей бедра оказалась неэффективной. Все мыши, инфицированные культурой штамма *P. aeruginosa* B1304 в дозе 30 ЛД₅₀ и получавшие бактериофаг PA5 в качестве профилактики (за 1 ч до заражения), умерли в течение 3 сут (рис. 4).

Фаготерапию и антибиотикотерапию синегнойной инфекции бедра у мышей начинали в ранние сроки инфекции, когда возбудитель локализовался только в месте введения (мышцах левого бедра), а бактериемии не наблюдалось. Пятидневный курс лечения фагом PA5 не дал положительного результата: все животные пали ко 2-м суткам наблюдения. Средний срок гибели (ССГ) составил 1,8 сут. При пятидневном подкожном введении препарата бактериофага также наблюдалась гибель 100% животных, но в этом случае ССГ увеличивался до 3,1 сут. Мыши из контрольной группы (без лечения) погибали в течение первых двух дней синегнойной инфекции бедра. Из селезенки, печени, крови и тканей левого бедра всех павших животных была выделена культура синегнойной палочки.

Лечение экспериментальной синегнойной инфекции бедра полимиксином было эффективным. На 14-й день после заражения выживаемость мышей, получавших антибиотик, составила 100%. Бактериологическое исследование печени, селезенки, крови и мягких тканей левого бедра (места введения культуры синегнойной палочки) выживших мышей не выявило культуры *P. aeruginosa* B1304.

Экспериментальная синегнойная инфекция бедра у мышей, вызываемая внутримышечным введением летальной дозы (30 ЛД₅₀) штамма *P. aeruginosa* PAO1, также не поддавалась фаготерапии (рис. 4). Все животные из групп профилактики и лечения умирали в течение 3 сут после заражения, а все контрольные животные погибали в период 24–48 ч. С другой стороны, антибиотикотерапия инфекции дала положительный результат. Через две недели после инфицирования 100% животных оставались живыми и не являлись носителями *P. aeruginosa* PAO1.

Для сравнительного изучения терапевтической эффективности бактериофага PA5 и полимиксина В мы использовали две модели синегнойной инфекции, поскольку *P. aeruginosa* способна вызывать различные патофизиологические изменения в организме хозяина в зависимости от локализации патогена. Мы выбрали модель острого сепсиса и инфекцию мягких тканей бедра, которые заканчиваются быстрой гибелью экспериментальных животных.

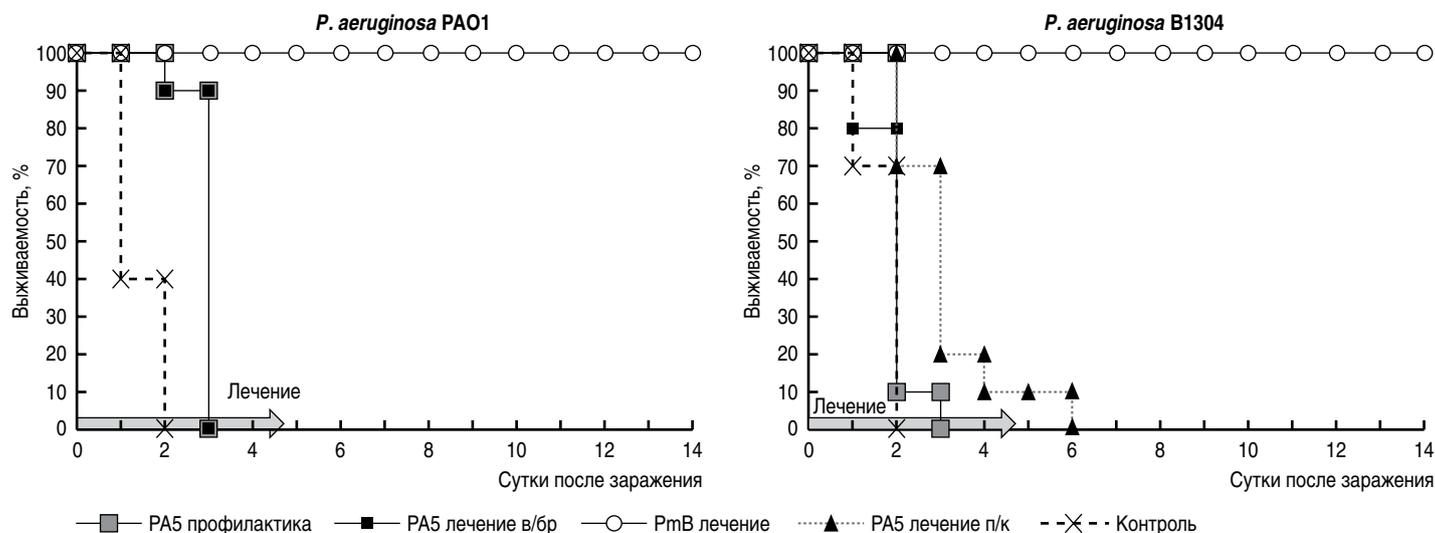


Рис. 4. Лечебная эффективность бактериофага PA5 и полимиксина при профилактике и лечении летальной инфекции у иммунодефицитных мышей BALB/c, вызванной внутримышечным введением 30 ЛД₅₀ культуры *P. aeruginosa*.

Летальные модели инфекции позволяют наглядно оценить активность различных антимикробных препаратов *in vivo* по выживаемости подопытных животных.

В качестве инфекционных агентов использовали широко применяемый штамм *P. aeruginosa* PAO1 и клинический изолят – *P. aeruginosa* B1304. Мышей линии BALB/c заражали культурами этих штаммов в относительно невысоких дозах – 8×10^4 и 6×10^5 КОЕ соответственно, поскольку использовали мышей с повышенной чувствительностью к инфекции, вводя им внутрибрюшинно патоген вместе с муцином, который подавляет активность макрофагов. Таким образом, мы хотели снизить токсическую нагрузку на организм животных в случае высокой антибактериальной активности испытуемых препаратов.

В наших экспериментах мы показали, что бактериофаг PA5, назначаемый внутрибрюшинно в дозе 5×10^8 КОЕ, эффективно защищает животных от гибели как в случае профилактики (однократно за час до заражения), так и при пятидневном лечении (начало терапии через 1,5 ч после заражения). Однако санирующее действие бактериофага PA5 зависело от штамма-возбудителя инфекции. Все выжившие животные, зараженные культурой *P. aeruginosa* B1304, после курса фаготерапии не являлись носителями патогена, а в случае штамма *P. aeruginosa* PAO1 у половины выживших мышей из печени и селезенки была выделена культура возбудителя инфекции (таблица). Yun-Jeong Neo и соавт. [27] также использовали септическую модель синегнойной инфекции для оценки антибактериальной активности литических бактериофагов. При однократном внутрибрюшинном введении иммунокомпетентным мышам фага МРК1 в дозе 2×10^7 БОЕ через 6 ч после внутрибрюшинного заражения культурой *P. aeruginosa* PAO1 100% мышей оставались живыми в течение 48 ч. Интересно, что при внутримышечном введении этого же бактериофага в той же дозе защитный эффект отсутствовал, что свидетельствует о важности выбора пути его введения. Очевидно, что при внутрибрюшинном способе введения фаговые частицы быстрее находят клетки-мишени – синегнойные палочки.

Несмотря на лечебную эффективность бактериофага PA5 при терапии острого сепсиса у мышей, мы не наблюдали положительного результата в случае лечения синегнойной инфекции бедра. Напротив, антибиотик полимиксин, обладающий большей биодоступностью, излечивал подопытных животных с летальной синегнойной инфекцией мягких тканей, вызываемой обоими использованными штаммами *P. aeruginosa*. Возможно, отсутствие положительного результата при фаготерапии бедренной инфекции у мышей связано с плохой проникающей способностью этого фага в мягкие ткани. Ранее на аналогичной модели бедренной *K. pneumoniae*-инфекции нами было установлено, что бактериофаги способны проникать в очаг инфекции и эффективно лизировать культуру возбудителя. Так, например, клебсиеллезный бактериофаг KpV289 при внутрибрюшинном введении мышам (10^8 БОЕ) в режимах профилактики и лечения защищал от гибели 90–100% животных, инфицированных внутримышечно культурой штамма *K. pneumoniae* KPM9 в дозе 100 ЛД50 [22]. Бактериологический анализ органов и тканей выживших животных показал, что под действием бактериофага произошла элиминация клеток *K. pneumoniae* KPM9.

Заключение

Бактериофаг PA5 по лечебно-профилактическому действию близок к высокоактивному антибиотику полимиксину В при терапии летального синегнойного сепсиса. Проведенные эксперименты показали, что однократное внутрибрюшинное введение мышам линии BALB/c фага в режиме профилактики (за 1 ч до заражения) защищает от гибели 100% животных. Пятидневный курс фаготерапии, начатый через 1,5 ч после заражения, защищает от гибели 70–80% мышей, в зависимости от штамма *P. aeruginosa*. Пятидневный курс лечения полимиксином дает 100% лечебный результат.

В отличие от полимиксина, бактериофаг PA5 неэффективен при профилактике и лечении летальной синегнойной инфекции бедра у мышей, что может объясняться низкой проникающей способностью этого фага в мышечную ткань инфицированных животных.

Финансирование

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Литература

- Gerald P, Bolivar BR, Fainstein V, Jadeja L. Infections Caused by *Pseudomonas aeruginosa*. Reviews of Infectious Diseases. 1983;5(2):279-313.
- Sievert DM, Ricks P, Edwards JR, Schneider A, Patel J, Srinivasan A, et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with Healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009-2010. Infect Control Hosp Epidemiol. 2013 Jan;34(1):1-14. DOI: 10.1086/668770.
- Руднов ВА, Бельский ДВ, Дехнич АВ, Матвеев АС, Гиевская ОЛ, Дрозд АВ, и др. Инфекции в ОРИТ России: результаты национального многоцентрового исследования. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2011;13(4):294-304.
- Custovic A, Smajlovic J, Hadzic S, Ahmetagic S, Tihic N, Hadzagic H. Epidemiological surveillance of bacterial nosocomial infections in the surgical intensive care unit. Mater Sociomed. 2014 Feb;26(1):7-11. DOI: 10.5455/msm.2014.26.7-11.
- Richards MJ, Edwards JR, Culver D.H, Gaynes RP. Nosocomial infections in combined medical-surgical intensive care units in the United States. Infect Control Hosp Epidemiol. 2000 Aug;21(8):510-5.
- Driscoll JA, Brody SL, Kollef MH. The epidemiology, pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. Drugs. 2007;67(3):351-68. DOI: 10.2165/00003495-200767030-00003
- Talwalkar JS, Talwalkar JS, Murray TS. The approach to *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. Clin Chest Med. 2016 Mar;37(1):69-81. DOI: 10.1016/j.ccm.2015.10.004
- Mogayzel P, Naureckas ET, Robinson KA. Cystic Fibrosis Foundation Pulmonary Clinical Practice Guidelines Committee. Cystic Fibrosis Foundation pulmonary guideline. Pharmacologic approaches to prevention and eradication of initial *Pseudomonas aeruginosa* infection. Ann Am Thorac Soc. 2014 Dec;11(10):1640-50. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201404-1660C
- Waters V, Smyth A. Cystic fibrosis microbiology: advances in antimicrobial therapy. J Cyst Fibros. 2015 Sep;14(5):551-60. DOI: 10.1016/j.jcf.2015.02.005
- López-Causapé C, Rojo-Molinero E, Macià MD, Oliver A. The problems of antibiotic resistance in cystic fibrosis and solutions. Expert Rev Respir Med. 2015 Feb; 9(1):73-88. DOI: 10.1586/17476348.2015.995640.

11. Ciofu O, Tolker-Nielsen T, Jensen P, Wang H, Hoiby N. Antimicrobial resistance, respiratory tract infections and role of biofilms in lung infections in cystic fibrosis patients. *Adv Drug Deliv Rev.* 2015 May;85:7-23. DOI: 10.1016/j.addr.2014.11.017
12. Goodleta KJ, Nicolau DP, Nailora MD. *In Vitro* Comparison of Ceftolozane-Tazobactam to Traditional Beta-Lactams and Ceftolozane-Tazobactam as an Alternative to Combination Antimicrobial Therapy for *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017 Nov 22;61(12). pii: e01350-17. DOI: 10.1128/AAC.01350-17
13. Toufekoula C, Papadakis V, Tsaganos T, Routsis C, Orfanos SE, Kotanidou A, et al. 2013. Compartmentalization of lipid peroxidation in sepsis by multidrug-resistant gram-negative bacteria: experimental and clinical evidence. *Crit Care.* 2013 Jan 16;17(1):R6. DOI: 10.1186/cc11930.
14. Воронина ОЛ, Кунда МС, Аветисян ЛР, Чернуха МЮ, Габриэлян НИ, Шагинян ИА, Лунин ВГ. Особенности штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, вызывающих госпитальные инфекции у пациентов хирургических отделений ФНЦТИО им. В.И.Шумакова. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2012;14(2):88-99.
15. Abdi-Ali A, Mohammadi-Mehr M, Agha Alaei Y. Bactericidal activity of various antibiotics against biofilm-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Antimicrob Agents.* 2006 Mar;27(3):196-200. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2005.10.007
16. Tseng BS, Zhang W, Harrison JJ, Quach TP, Song JL, Penterman J, et al. The extracellular matrix protects *Pseudomonas aeruginosa* biofilms by limiting the penetration of tobramycin. *Environ Microbiol.* 2013 Oct;15(10):2865-78. DOI: 10.1111/1462-2920.12155.
17. Louie A, Liu W, Van Guilder M, Neely MN, Schumitzky A, Jelliffe R, et al. Combination Treatment With Meropenem Plus Levofloxacin Is Synergistic Against *Pseudomonas aeruginosa* Infection in a Murine Model of Pneumonia. *J Infect Dis.* 2015 Apr 15;211(8):1326-33. DOI: 10.1093/infdis/jiu603
18. Aoki N, Tateda K, Kikuchi Y, Kimura S. Efficacy of colistin combination therapy in a mouse model of pneumonia caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother.* 2009 Mar;63(3):534-42. DOI: 10.1093/jac/dkn530
19. Vieira A, Silva YJ, Cunha A, Gomes NC, Ackermann HW, Almeida A. Phage therapy to control multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* skin infections: *in vitro* and *ex vivo* experiments *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012 Nov;31(11):3241-9. DOI: 10.1007/s10096-012-1691-x
20. Berchieri A Jr, Lovell MA, and Barrow PA. The activity in the chicken alimentary tract of bacteriophages lytic for *Salmonella typhimurium*. *Res Microbiol.* 1991 Jun;142(5):541-9.
21. Biswas B, Adhya S, Washart P, Paul B, Trostel AN, Powell B, et al. Bacteriophage therapy rescues mice bacteremic from a clinical isolate of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Infect Immun.* 2002 Jan;70(1):204-10.
22. Борзилов АИ, Воложанцев НВ, Коробова ОВ, Комбарова ТИ, Мякина ВП, Красильникова ВМ, и др. Эффективность бактериофага КРV289 при лечении острой пневмонии и инфекции бедра, вызванных *Klebsiella pneumoniae*, у мышей. *Инфекционные болезни.* 2017;15(3):48-57. DOI: 10.20953/1729-9225-2017-3-48-56
23. Борзилов АИ, Воложанцев НВ, Коробова ОВ, Комбарова ТИ, Мякина ВП, Красильникова ВМ, и др. Эффективность бактериофага SA18 при лечении экспериментальной стафилококковой инфекции у мышей линии BALB/c. *Инфекция и иммунитет.* 2017;S:906.
24. Борзилов АИ, Мякина ВП, Коробова ОВ, Комбарова ТИ, Красильникова ВМ, Веревкин ВВ, Воложанцев НВ. Оценка лечебно-профилактической эффективности бактериофага *Klebsiella pneumoniae* vB_Крпн_КрV289 на модели острого сепсиса у мышей. *Бактериология.* 2017;2(1):73-7. DOI: 10.20953/2500-1027-2017-1-73-77
25. Hagens S, Habel A, von Ahsen U, von Gabain A, Blasi U. Therapy of Experimental *Pseudomonas* Infections with a Nonreplicating Genetically Modified Phage. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004 Oct;48(10):3817-22. DOI: 10.1128/AAC.48.10.3817-3822.2004
26. Vieira A, Silva YJ, Cunha A, Gomes NCM, Ackermann H-W, Almeida A. Phage therapy to control multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* skin infections: *in vitro* and *ex vivo* experiments. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012 Nov; 31(11):3241-9. DOI: 10.1007/s10096-012-1691-x
27. Heo YJ, Lee YR, Jung HH, Lee J, Ko G, Cho YH. Antibacterial Efficacy of Phages against *Pseudomonas aeruginosa* Infections in Mice and *Drosophila melanogaster*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009 Jun;53(6):2469-74. DOI: 10.1128/AAC.01646-08
28. Lawrenz MB, Biller AE, Cramer DE, Kraenzle JL. Development and evaluation of murine lung-specific disease models for *Pseudomonas aeruginosa* applicable to therapeutic testing. *Pathog Dis.* 2015 Jul;73(5). pii: ftv025. DOI: 10.1093/femspd/ftv025.
29. Drusano GL, Vanscoy B, Liu W, Fikes S. Saturability of granulocyte kill of *Pseudomonas aeruginosa* in a murine model of pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Jun;55(6):2693-5. DOI: 10.1128/AAC.01687-10
30. Dudhani RV, Turnidge JD, Coulthard K, Milne RW, Rayner CR, Li J, Nation RL. Elucidation of the Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Determinant of Colistin Activity against *Pseudomonas aeruginosa* in Murine Thigh and Lung Infection Models. *Antimicrob. Antimicrob Agents Chemother.* 2010 Mar;54(3):1117-24. DOI: 10.1128/AAC.01114-09
31. Dai T, Gupta A, Hamblin MR. Blue Light Rescues Mice from Potentially Fatal *Pseudomonas aeruginosa* Burn Infection: Efficacy, Safety, and Mechanism of Action. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013 Mar;57(3):1238-45. DOI: 10.1128/AAC.01652-12
32. Craig WA, Andes DR. *In Vivo* Activities of Ceftolozane, a New Cephalosporin, with and without Tazobactam against *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacteriaceae*, Including Strains with Extended-Spectrum β -Lactamases, in the Thighs of Neutropenic Mice. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013 Apr;57(4):1577-82. DOI: 10.1128/AAC.01590-12
33. Berkhout J, Melchers MJ, van Mil AC, Seyedmousavi S. Pharmacodynamics of Ceftazidime and Avibactam in Neutropenic Mice with Thigh or Lung Infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015 Nov 2;60(1):368-75. DOI: 10.1128/AAC.01269-15
34. Sugihara K, Tateda K, Yamamura N, Koga T, Sugihara K. Efficacy of Human-Simulated Exposures of Tomopenem Formerly CS-023) in a Murine Model of *Pseudomonas aeruginosa* and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Nov;55(11):5004-9. DOI: 10.1128/AAC.00068-11
35. Reyes N, Aggen JB, Kostrub CF, Reyes N. *In Vivo* Efficacy of the Novel Aminoglycoside ACHN-490 in Murine Infection Models. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Apr;55(4):1728-33. DOI: 10.1128/AAC.00862-10
36. Pan CY, Chen JC, Sheen JF, Lin TL, Chen JY. Epinecidin-1 Has Immunomodulatory Effects, Facilitating Its Therapeutic Use in a Mouse Model of *Pseudomonas aeruginosa* Sepsis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014 Aug;58(8):4264-74. DOI: 10.1128/AAC.02958-14
37. Gratia A. Des relations numeriques entre bacteries lysogenes et particules de acteriophage. *Ann. Inst. Pasteur.* 1936;57:652.

References

1. Gerald P, Bolivar BR, Fainstein V, Jadeja L. Infections Caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Reviews of Infectious Diseases.* 1983;5(2):279-313.
2. Sievert DM, Ricks P, Edwards JR, Schneider A, Patel J, Srinivasan A, et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with Healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009-2010. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2013 Jan;34(1):1-14. DOI: 10.1086/668770.
3. Rudnov VA, Belsky DV, Dekhnich AV, Matveev AS, Yarustovsky MB, et al. Infections in Russian ICUs: Results of the Nationwide Multicenter Study. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy.* 2011;13(4):294-304. (In Russian).

4. Custovic A, Smajlovic J, Hadzic S, Ahmetagic S, Tihic N, Hadzagic H. Epidemiological surveillance of bacterial nosocomial infections in the surgical intensive care unit. *Mater Sociomed.* 2014 Feb;26(1):7-11. DOI: 10.5455/msm.2014.26.7-11.
5. Richards MJ, Edwards JR, Culver D.H, Gaynes RP. Nosocomial infections in combined medical-surgical intensive care units in the United States. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2000 Aug;21(8):510-5.
6. Driscoll JA, Brody SL, Kollef MH. The epidemiology, pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs.* 2007;67(3):351-68. DOI: 10.2165/00003495-200767030-00003
7. Talwalkar JS, Talwalkar JS, Murray TS. The approach to *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *Clin Chest Med.* 2016 Mar;37(1):69-81. DOI: 10.1016/j.ccm.2015.10.004
8. Mogayzel P, Naureckas ET, Robinson KA. Cystic Fibrosis Foundation Pulmonary Clinical Practice Guidelines Committee. Cystic Fibrosis Foundation pulmonary guideline. Pharmacologic approaches to prevention and eradication of initial *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Ann Am Thorac Soc.* 2014 Dec;11(10):1640-50. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201404-1660C
9. Waters V, Smyth A. Cystic fibrosis microbiology: advances in antimicrobial therapy. *J Cyst Fibros.* 2015 Sep;14(5):551-60. DOI: 10.1016/j.jcf.2015.02.005
10. López-Causapé C, Rojo-Molinero E, Macià MD, Oliver A. The problems of antibiotic resistance in cystic fibrosis and solutions. *Expert Rev Respir Med.* 2015 Feb;9(1):73-88. DOI: 10.1586/17476348.2015.995640.
11. Ciofu O, Tolker-Nielsen T, Jensen P, Wang H, Hoiby N. Antimicrobial resistance, respiratory tract infections and role of biofilms in lung infections in cystic fibrosis patients. *Adv Drug Deliv Rev.* 2015 May;85:7-23. DOI: 10.1016/j.addr.2014.11.017
12. Goodleta KJ, Nicolaub DP, Nailora MD. *In Vitro* Comparison of Ceftolozane-Tazobactam to Traditional Beta-Lactams and Ceftolozane-Tazobactam as an Alternative to Combination Antimicrobial Therapy for *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017 Nov 22;61(12). pii: e01350-17. DOI: 10.1128/AAC.01350-17
13. Toufekoula C, Papadakis V, Tsaganos T, Routs C, Orfanos SE, Kotanidou A, et al. 2013. Compartmentalization of lipid peroxidation in sepsis by multidrug-resistant gram-negative bacteria: experimental and clinical evidence. *Crit Care.* 2013 Jan 16;17(1):R6. DOI: 10.1186/cc11930.
14. Voronina OL, Kunda MS, Avetisyan LR, Chernukha MYu, Gabrielyan NI, Shaginyan IA, Lunin VG. Properties of *Pseudomonas aeruginosa* Strains Causing Nosocomial Infections in Surgical Wards in Federal Scientific Center of Transplantation and Bioartificial Organs. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy.* 2012;14(2):88-99. (In Russian).
15. Abdi-Ali A, Mohammadi-Mehr M, Agha Alaei Y. Bactericidal activity of various antibiotics against biofilm-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Antimicrob Agents.* 2006 Mar;27(3):196-200. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2005.10.007
16. Tseng BS, Zhang W, Harrison JJ, Quach TP, Song JL, Penterman J, et al. The extracellular matrix protects *Pseudomonas aeruginosa* biofilms by limiting the penetration of tobramycin. *Environ Microbiol.* 2013 Oct;15(10):2865-78. DOI: 10.1111/1462-2920.12155.
17. Louie A, Liu W, Van Guilder M, Neely MN, Schumitzky A, Jelliffe R, et al. Combination Treatment With Meropenem Plus Levofloxacin Is Synergistic Against *Pseudomonas aeruginosa* Infection in a Murine Model of Pneumonia. *J Infect Dis.* 2015 Apr 15;211(8):1326-33. DOI: 10.1093/infdis/jiu603
18. Aoki N, Tateda K, Kikuchi Y, Kimura S. Efficacy of colistin combination therapy in a mouse model of pneumonia caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother.* 2009 Mar;63(3):534-42. DOI: 10.1093/jac/dkn530
19. Vieira A, Silva YJ, Cunha A, Gomes NC, Ackermann HW, Almeida A. Phage therapy to control multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* skin infections: *in vitro* and *ex vivo* experiments *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012 Nov;31(11):3241-9. DOI: 10.1007/s10096-012-1691-x
20. Berchieri A Jr, Lovell MA, and Barrow PA. The activity in the chicken alimentary tract of bacteriophages lytic for *Salmonella typhimurium*. *Res Microbiol.* 1991 Jun;142(5):541-9.
21. Biswas B, Adhya S, Washart P, Paul B, Trostel AN, Powell B, et al. Bacteriophage therapy rescues mice bacteremic from a clinical isolate of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Infect Immun.* 2002 Jan;70(1):204-10.
22. Borzilov AI, Volozhantsev NV, Korobova OV, Kombarova TI, Myakinina VP, Krasilnikova VM, et al. The effectiveness of bacteriophage KpV289 in treatment of acute pneumonia and a hip infection caused by *Klebsiella pneumoniae* in mice. *Infekc. bolezni (Infectious diseases).* 2017;15(3):48-57. DOI: 10.20953/1729-9225-2017-3-48-56 (In Russian).
23. Borzilov AI, Korobova OV, Kombarova TI, Abaev IV. Effektivnost' bakteriofaga SA18 pri lechenii eksperimental'noi stafilokokkovoi infektsii u myshei linii BALB/s. *Russian Journal of Infection and Immunity.* 2017;S:906. (In Russian).
24. Borzilov AI, Myakinina VP, Korobova OV, Kombarova TI, Krasilnikova VM, Verevkin VV, Volozhantsev NV. Evaluation of preventive and therapeutic efficacy of *Klebsiella pneumoniae* bacteriophage vB_KpnP_KpV289 on the model of acute sepsis in mice. *Bacteriology.* 2017;2(1):73-7. DOI: 10.20953/2500-1027-2017-1-73-77 (In Russian).
25. Hagens S, Habel A, von Ahsen U, von Gabain A, Blasi U. Therapy of Experimental *Pseudomonas* Infections with a Nonreplicating Genetically Modified Phage. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004 Oct;48(10):3817-22. DOI: 10.1128/AAC.48.10.3817-3822.2004
26. Vieira A, Silva YJ, Cunha A, Gomes NCM, Ackermann H-W, Almeida A. Phage therapy to control multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* skin infections: *in vitro* and *ex vivo* experiments. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012 Nov;31(11):3241-9. DOI: 10.1007/s10096-012-1691-x
27. Heo YJ, Lee YR, Jung HH, Lee J, Ko G, Cho YH. Antibacterial Efficacy of Phages against *Pseudomonas aeruginosa* Infections in Mice and *Drosophila melanogaster*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009 Jun;53(6):2469-74. DOI: 10.1128/AAC.01646-08
28. Lawrenz MB, Biller AE, Cramer DE, Kraenzle JL. Development and evaluation of murine lung-specific disease models for *Pseudomonas aeruginosa* applicable to therapeutic testing. *Pathog Dis.* 2015 Jul;73(5). pii: ftv025. DOI: 10.1093/femspd/ftv025.
29. Drusano GL, Vanscoy B, Liu W, Fikes S. Saturability of granulocyte kill of *Pseudomonas aeruginosa* in a murine model of pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Jun;55(6):2693-5. DOI: 10.1128/AAC.01687-10
30. Dudhani RV, Turnidge JD, Coulthard K, Milne RW, Rayner CR, Li J, Nation RL. Elucidation of the Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Determinant of Colistin Activity against *Pseudomonas aeruginosa* in Murine Thigh and Lung Infection Models. *Antimicrob. Antimicrob Agents Chemother.* 2010 Mar;54(3):1117-24. DOI: 10.1128/AAC.01114-09
31. Dai T, Gupta A, Hamblin MR. Blue Light Rescues Mice from Potentially Fatal *Pseudomonas aeruginosa* Burn Infection: Efficacy, Safety, and Mechanism of Action. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013 Mar;57(3):1238-45. DOI: 10.1128/AAC.01652-12
32. Craig WA, Andes DR. *In Vivo* Activities of Ceftolozane, a New Cephalosporin, with and without Tazobactam against *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacteriaceae*, Including Strains with Extended-Spectrum β -Lactamases, in the Thighs of Neutropenic Mice. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013 Apr;57(4):1577-82. DOI: 10.1128/AAC.01590-12
33. Berkhout J, Melchers MJ, van Mil AC, Seyedmousavi S. Pharmacodynamics of Ceftazidime and Avibactam in Neutropenic Mice with Thigh or Lung Infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015 Nov 2;60(11):368-75. DOI: 10.1128/AAC.01269-15
34. Sugihara K, Tateda K, Yamamura N, Koga T, Sugihara K. Efficacy of Human-Simulated Exposures of Tomopenem Formerly CS-023) in a Murine Model of *Pseudomonas aeruginosa* and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Nov;55(11):5004-9. DOI: 10.1128/AAC.00068-11

35. Reyes N, Aggen JB, Kostrub CF, Reyes N. *In Vivo* Efficacy of the Novel Aminoglycoside ACHN-490 in Murine Infection Models. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Apr;55(4):1728-33. DOI: 10.1128/AAC.00862-10
36. Pan CY, Chen JC, Sheen JF, Lin TL, Chen JY. Epinecidin-1 Has Immunomodulatory Effects, Facilitating Its Therapeutic Use in a Mouse Model of *Pseudomonas aeruginosa* Sepsis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014 Aug;58(8):4264-74. DOI: 10.1128/AAC.02958-14
37. Gratia A. Des relations numeriques entre bacteries lysogenes et particules de acteriophage. *Ann. Inst. Pasteur.* 1936;57:652.

Воложанцев Николай Валентинович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики и генно-инженерных препаратов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, п. Оболensk, Серпуховский район, Московская область, ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 360147
E-mail: nikvol@obolensk.org

Информация об авторах:

Коробова Ольга Васильевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биологических испытаний ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, п. Оболensk, Серпуховский район, Московская область, ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 36-0147
E-mail: korobova@obolensk.org

Комбарова Татьяна Ивановна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биологических испытаний ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, п. Оболensk, Серпуховский район, Московская область, ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 36-0147
E-mail: kombarova@obolensk.org

Мякина Вера Павловна, научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики и генно-инженерных препаратов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, п. Оболensk, Серпуховский район, Московская область, ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 36-0147
E-mail: myakinina@obolensk.org

Красильникова Валентина Михайловна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики и генно-инженерных препаратов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, п. Оболensk, Серпуховский район, Московская область, ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 36-0147
E-mail: krasilnikova@obolensk.org

Верёвкин Владимир Васильевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики и генно-инженерных препаратов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, п. Оболensk, Серпуховский район, Московская область, ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 360147
E-mail: verevkin@obolensk.org

Information about authors:

Olga V. Korobova, PhD (Biol.), senior researcher of the biological testing laboratory, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology
Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
Phone: (4967)360147
E-mail: korobova@obolensk.org

Tatiana I. Kombarova, PhD (Biol.), senior researcher of the biological testing laboratory, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology
Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
Phone: (4967) 360147
E-mail: kombarova@obolensk.org

Vera P. Myakinina, researcher of the laboratory of molecular diagnostics and genetically engineered preparations, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0147
E-mail: myakinina@obolensk.org

Valentina M. Krasilnikova, PhD (Biol.), senior researcher of the laboratory of molecular diagnostics and genetically engineered preparations, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0147
E-mail: krasilnikova@obolensk.org

Vladimir V. Verevkin, PhD (Biol.), senior of the laboratory of molecular diagnostics and genetically engineered preparations, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0147
E-mail: verevkin@obolensk.org

Nikolai V. Volozhantsev, PhD (Biol.), leading researcher, head of the laboratory of molecular diagnostics and genetically engineered preparations, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
Phone: (4967) 360147
E-mail: nikvol@obolensk.org

НОВОСТИ НАУКИ

Метаболическая регуляция микробиоты

Микробиота кишечника влияет на здоровье человека, но мы только начинаем понимать взаимодействия между хозяином и микробом. Ученые изучили как эпителиальные клетки толстой кишки опосредуют симбиоз. Здоровые колоноциты поддерживают анаэробные условия в просвете кишечника, поскольку их метаболизм обеспечивает быстрое потребление кислорода. Такие условия селективны для облигатных анаэробных организмов. Как правило, это микроорганизмы, потребляющие пищевые волокна и производящие жирные кислоты с короткой цепью, полезные для хозяина. В случае изменения метаболизма колоноцитов – из-за болезней, диеты или других повреждений – эпителий становится оксигенированным. Присутствие кислорода способствует распространению факультативных аэробных организмов. Патогенные микроорганизмы, часто являются кислородно-толерантными, и результатом может быть дисбиоз.

