

Препараты бактериофагов и комбинации антибиотиков: *in vitro* активность в отношении изолятов *Pseudomonas aeruginosa* ST235 с экстремальной антибиотикорезистентностью

Д.В. Тапальский

Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

Изучена активность 11 комбинаций антибиотиков и 4 коммерчески доступных препаратов для фаготерапии в отношении продуцирующих металло-бета-лактамазы (МБЛ) клинических изолятов *Pseudomonas aeruginosa*, относящихся к сиквенс-типу ST235, клональному комплексу CC235. Выявлены высокие уровни резистентности МБЛ-продуцирующих изолятов *P. aeruginosa* с многократным превышением пороговых значений ФК/ФД-концентраций для бета-лактамов, аминогликозидов и фторхинолонов и сохраненной чувствительностью только к полимиксинам. Все комбинации антибиотиков на основе колистина не проявляли синергидного и адди-

тивного эффекта. Обнаружены комбинации с аддитивным эффектом на основе амикацина. Показана недостаточная активность препаратов для фаготерапии (чувствительность к ним обнаруживалась не более чем у 32% изолятов), выявлены отличия в спектрах активности различных препаратов с заявленной антипсевдомонадной активностью, обнаружена высокая частота возникновения вторичной фагорезистентности.

Ключевые слова: синегнойная палочка, антибиотикорезистентность, полимиксины, карбапенемы, комбинации антибиотиков, бактериофаги.

Bacteriophage Preparations and Antibiotic Combinations: *In vitro* Activity Against Extensively Drug-Resistant Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* ST235

D.V. Tapalskiy

Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

The activity of 11 antibiotics combinations and 4 commercially available preparations for phagotherapy in regard to *metallo-beta-lactamase* (MBL) producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates of sequence type 235 (ST 235) belonging to the clonal complex (CC 235) is studied. High levels of drug resistance of MBL-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates with multiple excess of threshold PC/PD-concentrations for beta-lactams, aminoglycosides and fluorquinolones

and preserved sensitivity only to polymyxins are revealed. Synergetic and additive effect of all antibiotic combinations based on colistin is not shown. Amikacin-based combinations with additive effect are found out. Insufficient activity of preparations for phagotherapy is demonstrated (no more than 32% isolates are possessed of sensitivity to them). Different preparations with labeled anti-*Pseudomonas* activity showed differences between the spectrum of antibacterial activity. High incidence rate of secondary phage resistance is detected.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, antibiotic resistance, polymyxins, carbapenems, antibiotic combinations, bacteriophages.

Контактный адрес:
Дмитрий Викторович Тапальский
Эл. почта: tapalskiy@yandex.by

Введение

Синегнойная палочка является микроорганизмом с обширным набором факторов патогенности, значительным эпидемическим потенциалом и высокой способностью к адаптации. Это один из наиболее распространенных возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, быстро формирующий устойчивость к антибиотикам. В последнее десятилетие отмечается стремительное увеличение устойчивости *P. aeruginosa* практически ко всем антибактериальным препаратам, включая антисинегнойные цефалоспорины и карбапенемы. Наличие в популяционной структуре *P. aeruginosa* клонов «высокого эпидемического риска» способствует быстрому вертикальному и горизонтальному распространению множества генетических факторов антибиотикорезистентности, важнейшими из которых являются гены приобретенных *металло-бета-лактамаз* (МБЛ) [1]. Сцепление генов МБЛ с другими генами резистентности приводит к формированию экстремальной антибиотикорезистентности, т. е. устойчивости по крайней мере к одному антибиотику практически во всех классах антимикробных препаратов, за исключением 1–2 классов [2].

Ранее показано интенсивное распространение клонального комплекса 235 (СС235) синегнойной палочки на территории Российской Федерации, Беларуси и Казахстана [3, 4]. Более 95% МБЛ-продуцирующих российских штаммов *P. aeruginosa* принадлежит к этому эпидемическому клону. В современных условиях только полимиксины сохраняют свою эффективность в отношении экстремально-антибиотикорезистентных штаммов синегнойной палочки, однако увеличение частоты их использования закономерно приведет к формированию и распространению полной устойчивости к антибиотикам среди представителей СС235 [5]. Таким образом, перечень имеющихся потенциально эффективных антисинегнойных антибиотиков крайне ограничен, при этом в ближайшем будущем не ожидается появления новых препаратов с активностью против грамотрицательных бактерий [6].

Ведется поиск альтернативных стратегий этиотропной терапии, способных оказывать эффективное воздействие на экстремально-антибиотикорезистентные и панрезистентные штаммы. Среди них — использование комбинаций антибиотиков и фаготерапия. Основной целью комбинированной антибиотикотерапии является достижение синергидного эффекта и расширение спектра антибактериальной активности в отношении множественноустойчивых патогенов [7]. Комбинированная терапия широко используется для лечения инфекций, вызванных

панрезистентными грамотрицательными возбудителями или возбудителями, сохраняющими чувствительность только к одному из антибиотиков [8, 9]. Описаны различные комбинации антибиотиков, *in vitro* обладающие синергидным действием в отношении экстремально-антибиотикорезистентных штаммов *P. aeruginosa* [10, 11]. Большинство из них предполагает использование колистина (полимиксина Е) в качестве «ключевого» препарата и включение в комбинацию аминогликозидов, фторхинолонов или фосфомицина.

Карбапенемы также используются в роли «ключевого» антибиотика в комбинированной терапии инфекций, вызванных в том числе и резистентными к ним грамотрицательными возбудителями. Однако для МБЛ-продуцирующих *P. aeruginosa* характерны очень высокие значения *минимальных подавляющих концентраций* (МПК) карбапенемов, часто превышающие 64 мкг/мл, что значительно ограничивает их использование. Вместе с тем, ряд работ показывает, что комбинация полимиксинов или аминогликозидов с одним из карбапенемов, выступающим в данном случае «адьювантным» антибиотиком, является потенциально полезной вследствие эффекта синергизма за счет действия ее компонентов на разные мишени [12, 13].

Микробиологическая эффективность комбинаций антибиотиков трудно прогнозируема в связи с возможным присутствием у микроорганизма разнообразных механизмов резистентности даже к препаратам из одной группы. Поэтому для подбора эффективных комбинаций антибиотиков требуется проводить микробиологическое тестирование изолятов, выделенных от конкретного больного [14]. С исследовательской целью для определения антимикробного эффекта комбинаций антибиотиков *in vitro* используются различные методы, в частности метод «шахматной доски», модифицированный метод Е-тестов, time-kill тест [15].

Среди альтернативных антимикробных агентов, активных в отношении экстремально-антибиотикорезистентных *P. aeruginosa*, особый интерес вызывают бактериофаги [16, 17]. Специфичность и узкий спектр активности бактериофагов позволяют избежать характерных для антибиотиков осложнений, связанных с воздействием на нормальную микрофлору, но также требуют обязательного тестирования выделенных возбудителей на чувствительность к соответствующим фагам перед назначением фаготерапии. Узкий спектр антибактериальной активности отдельных синегнойных бактериофагов можно компенсировать путем использования комбинаций из нескольких фагов с различными спектрами активности [18, 19].

Российская иммунобиологическая промышленность выпускает ряд препаратов бактериофагов с заявленной активностью против синегнойной палочки: «Бактериофаг синегнойный», «Пиобактериофаг поливалентный», «Секстафаг», «Интести-бактериофаг» (НПО «Микроген») [20]. Отдельной проблемой является устойчивость бактерий к фагам, которая может быть как первичной, связанной с отсутствием специфических рецепторов для бактериофагов на поверхности микробной клетки, так и вторичной, приобретенной [21]. Распространение вторичной фагорезистентности в бактериальных популяциях *P. aeruginosa* способно существенно снизить эффективность фаготерапии с использованием имеющихся препаратов бактериофагов. Решением проблемы в таких случаях может стать поиск новых активных литических фагов во внешней среде [19].

В доступной литературе имеется крайне ограниченное количество работ, посвященных изучению чувствительности клинических изолятов *P. aeruginosa* к коммерческим препаратам бактериофагов. В разных публикациях на небольших выборках микроорганизмов показана чувствительность от 43 до 72% изолятов синегнойной палочки к различным фаговым препаратам [22–24]. Отсутствуют данные по чувствительности к препаратам бактериофагов экстремально-антибиотикорезистентных штаммов.

Цель исследования — поиск бактериофагов и комбинаций антибиотиков, эффективных *in vitro* в отношении экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *P. aeruginosa*.

Материал и методы

В исследование включены 53 неповторяющихся клинических изолята *P. aeruginosa*, 37 из них выделены в лечебных учреждениях Республики Беларусь (Минск — 10 изолятов, Гомель — 6 изолятов, Могилев — 21 изолят), 16 изолятов — из коллекции НИИ антимикробной терапии, г. Смоленск (Москва — 3 изолята; Воронеж, Казань, Краснодар, Липецк, Н.Новгород, Новосибирск, Омск, Пермь, Смоленск, Тольятти, Тюмень, Челябинск, Якутск — по 1 изоляту).

Все отобранные изоляты являлись экстремально-антибиотикорезистентными: 39 изолятов (73,6%) были устойчивыми ко всем антисинегнойным антибактериальным препаратам, за исключением полимиксинов, 14 изолятов (26,4%) сохраняли чувствительность к полимиксинам и азтреонаму. Устойчивость к карбапенемам у всех отобранных в исследование изолятов была обусловлена продукцией МБЛ VIM- или IMP-типов [3]. Продукция

МБЛ выявлена с использованием метода двойных дисков с ЭДТА [25]. Наличие генов МБЛ VIM- или IMP-типов подтверждено методом ПЦР в реальном времени с использованием коммерческого набора «АмплиСенс MDR MBL-FL» (ЦНИИ эпидемиологии, Москва).

В исследование включены препараты бактериофагов производства НПО «Микроген»: «Бактериофаг синегнойный» (г. Пермь), «Бактериофаг синегнойный» (г. Н. Новгород), «Секстафаг» (г. Пермь), «Пиобактериофаг поливалентный очищенный» (г. Уфа). Определение диапазона действия бактериофагов в отношении клинических изолятов микроорганизмов проводилось капельным методом (спот-тест) на агаре Мюллера–Хинтона (HiMedia, Индия). Для приготовления инокулюма (оптическая плотность 0,5 по МакФарланду) использовали чистые суточные культуры микроорганизмов, выращенные на плотной среде. Инокуляцию проводили хлопковым тампоном. После инокуляции чашки подсушивали в течение 10–15 мин и наносили препараты бактериофагов в объеме 20 мкл каждого, посева инкубировали 18–20 ч при температуре 35 °С. Учет степени лизиса выполняли по общепринятой четырехкестной системе. Исследование проводили в трех повторениях.

Для обнаружения бактериофагов, активных в отношении экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *P. aeruginosa*, проведен отбор проб речной воды (р. Сож, р. Днепр, р. Березина, р. Свислочь). Вода отбиралась в стерильные стеклянные флаконы в объеме 500 мл и до выполнения исследования хранилась при 6±2 °С. Для проведения исследования 100 мл воды смешивали со 100 мл триптиказо-соевого бульона (BD, США) двойной концентрации (60 г дегидратированной среды на 1 л воды). Для тестирования использовали культуры, устойчивые к препаратам бактериофагов производства НПО «Микроген». Из суточных культур, выращенных на ГРМ-агаре (ГНЦ ПМБ, Оболенск), готовили бактериальные суспензии с оптической плотностью 3,0 по МакФарланду (контроль с помощью денситометра) в стерильном изотоническом растворе хлорида натрия. Во флаконы со смесью из образца воды и питательной среды вносили бактериальные суспензии (одновременно 4–5 изолятов) до конечной концентрации 5×10^6 микробных клеток/мл. Инкубацию проводили в течение 48 ч в шейкере-инкубаторе при 35 °С с постоянным низкоамплитудным встряхиванием. Бульонные культуры переносили в стерильные 50 мл-полипропиленовые пробирки (Sarstedt, Германия) и центрифугировали для осаждения микробных клеток в течение

Таблица 1. Спектр литической активности препаратов бактериофагов в отношении экстремально-антибиотикорезистентных *P. aeruginosa* — продуцентов металло-бета-лактамаз

Оценка литической активности	Бактериофаг синегнойный (г. Пермь) Серия 97 (03/2014)		Бактериофаг синегнойный (г. Н. Новгород) Серия Н6 (01/2014)		Секстафаг (г. Пермь) Серия 688 (04/2014)		Пиобактериофаг (г. Уфа) Серия У33 (04/2014)	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
«4+»	3	5,7	3	5,7	2	3,8	1	1,9
«3+»	14	26,4	8	15,1	14	26,4	8	15,1
«2+»	10	18,9	8	15,1	11	20,8	7	13,2
«1+»	11	20,8	8	15,1	6	11,3	7	13,2
«+/-»	2	3,8	6	11,3	3	5,7	5	9,4
«-»	13	24,5	20	37,7	17	32,1	25	47,2
Всего чувствительных («4+», «3+»)	17	32,1	11	20,8	16	30,2	9	17,0

15 мин при 5000 об/мин. Супернатант фильтровали через фильтры Filtropur S 0,45 (Sarstedt, Германия). Спектр активности полученных фаголизатов определяли в спот-тесте.

Определение *минимальных подавляющих концентраций* (МПК) меропенема, имипенема, цефтазидима, азтреонама, амикацина, левофлоксацина и колистина (полимиксина Е) выполнено методом градиентной диффузии с использованием Е-тестов (bioMerieux, Франция). Интерпретация полученных результатов проводилась с использованием критериев EUCAST v.6.0 [26]. Микробиологическая эффективность комбинаций из двух антибиотиков определена модифицированным методом Е-тестов (кросс-тест) [15]. Подготовку инокулюма и инокуляцию чашек с агаром Мюллера–Хинтон проводили по стандартной методике. Две полоски Е-тестов, содержащие антибиотики тестируемой комбинации, совмещали на чашке под углом 90° по отношению друг к другу. Точка совмещения двух полосок располагалась в местах, соответствующих предварительно определенным МПК для каждого из препаратов. Чашки инкубировали 18 ч при температуре 35 °С, после чего определяли МПК для каждого из антибиотиков в составе комбинации. Рассчитывали *фракционные подавляющие концентрации* (ФПК) для каждого из препаратов в комбинации:

$$\text{ФПК}_A = \text{МПК}_{AB} / \text{МПК}_A$$

$$\text{ФПК}_B = \text{МПК}_{BA} / \text{МПК}_B, \text{ где}$$

МПК_{AB} — МПК препарата А в присутствии препарата В, МПК_A — МПК А без добавления второго препарата.

Индекс ФПК рассчитывался как сумма ФПК каждого из препаратов в комбинации:

$$\Sigma\text{ФПК} = \text{ФПК}_A + \text{ФПК}_B$$

При $\Sigma\text{ФПК} \leq 0,5$ эффект комбинации антибиотиков оценивался как синергидный, при $0,5 < \Sigma\text{ФПК} \leq 1$ — как аддитивный, при $1 < \Sigma\text{ФПК} \leq 4$ — как нейтральный.

Результаты и обсуждение

Результаты определения литической активности бактериофагов в отношении клинических изолятов МБЛ-продуцирующих *P. aeruginosa* представлены в табл. 1.

В целом отмечен невысокий уровень активности коммерчески доступных препаратов. Так, достаточный уровень литической активности («3+» или «4+») препарата «Бактериофаг синегнойный» (г. Пермь) определен только для 32,1% изолятов синегнойной палочки. Сходный уровень активности отмечен для препарата «Секстафаг» (г. Пермь), что может быть связано с включением предприятием-изготовителем в состав различных препаратов одноклеточных синегнойных бактериофагов из производственной коллекции. Другие препараты, потенциально эффективные против *P. aeruginosa*, лизировали с достаточной активностью меньшее количество изолятов. Даже в случае приемлемой литической активности бактериофагов в большинстве случаев отмечалось развитие вторичной устойчивости синегнойной палочки к ним в ходе эксперимента (наличие отдельных микроколоний вторично-резистентных мутантов в зоне стерильного пятна, подобный результат учитывался как «3+»).

Низкий уровень активности препаратов для фаготерапии может быть связан с относительно быстрым клональным распространением *P. aeruginosa* СС235 на территории Российской Федерации (увеличение доли относящихся к СС235 штаммов с 1,5% в 1997–1999 гг. до 37,6% в 2011–

Таблица 2. Эффективность комбинаций антибиотиков в отношении экстремально-антибиотико-резистентных клинических изолятов *P. aeruginosa*

Комбинация антибиотиков	Количество исследованных изолятов	Интерпретация результатов (количество и процент изолятов)		
		синергизм ($\Sigma\text{ФПК} \leq 0,5$)	аддитивный эффект ($0,5 < \Sigma\text{ФПК} \leq 1$)	нейтральный эффект ($1 < \Sigma\text{ФПК} \leq 4$)
Колистин + азтреонам	8	–	–	8 (100)
Колистин + цефтазидим	8	–	–	8 (100)
Колистин + амикацин	8	–	–	8 (100)
Колистин + меропенем	3	–	–	3 (100)
Колистин + левофлоксацин	3	–	–	3 (100)
Амикацин + азтреонам	8	–	2 (25)	6 (75)
Амикацин + цефтазидим	8	–	3 (37,5)	5 (62,5)
Меропенем + амикацин	3	–	1 (33,3)	3 (66,7)
Меропенем + левофлоксацин	3	–	–	3 (100)
Цефтазидим + левофлоксацин	3	–	–	3 (100)
Азтреонам + левофлоксацин	3	–	–	3 (100)

2013 г. [5]) и отсутствием в производственных коллекциях предприятий актуальных бактериофагов, эффективных в отношении клонального комплекса СС235. Еще одной причиной неэффективности может служить выявленная в эксперименте высокая частота формирования у синегнойной палочки СС235 вторичной резистентности к препаратам для фаготерапии.

Из речной воды нами выделены бактериофаги, активные в отношении экстремально-антибиотикорезистентных МБЛ-продуцирующих изолятов *P. aeruginosa*, устойчивых к действию препаратов бактериофагов производства «НПО «Микроген». Наиболее широким спектром литической активности обладал бактериофаг Р-33, который с интенсивностью не менее «3+» лизировал 31 изолят (58,5%) *P. aeruginosa*, в том числе 17 изолятов (32,1%), которые не лизировались ни одним из коммерчески доступных препаратов. Однако принадлежность фага Р-33 к группе *phiKZ*-подобных фагов семейства *Muoviridae* (Климук Е.И., Эйдельштейн М.В., неопубликованные данные) не позволяет рекомендовать его для включения в состав препаратов для фаготерапии в связи с наличием псевдолизогенизирующей активности у *phiKZ*-бактериофагов и высокой частоты развития вторичной устойчивости к ним у синегнойной палочки [27]. В работе М. Henry и соавт. была показана неспособность *phiKZ*-подобных фагов к элиминации чувствительных к ним *in vitro* изолятов синегнойной палочки на мышиных моделях [28].

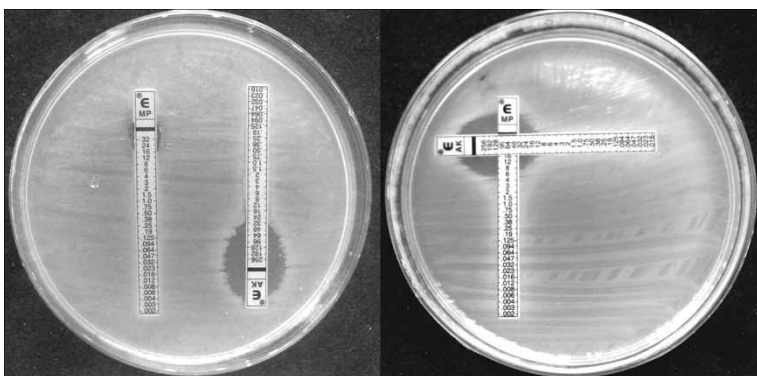
Оценка эффективности комбинаций антибиотиков проведена для 8 экстремально-антибиотикорезистентных клинических изолятов *P. aeruginosa*,

выделенных в лечебных учреждениях Республики Беларусь (Гомель, Минск, Могилев) и Российской Федерации (Москва, Казань, Новосибирск, Якутск). Все изоляты имели генную кассету $\text{bla}_{\text{VIM-2}}$, кодирующую МБЛ VIM-2, и принадлежали к ST235 [5].

В соответствии с критериями EUCAST v.6.0, все изоляты сохраняли чувствительность к колистину (МПК 0,094–1,0 мкг/мл). МПК азтреонама находилась в диапазоне от 1,5 до 24 мкг/мл, цефтазидима — от 12 до 32 мкг/мл, амикацина — от 32 до 128 мкг/мл. МПК имипенема, меропенема и левофлоксацина для всех изолятов в восемь и более раз превышали пограничные ФК/ФД концентрации (EUCAST v.6.0). Для 5 изолятов не удалось установить точные значения МПК карбапенемов и левофлоксацина, поскольку они находились за пределами максимальной концентрации антибиотика, имеющейся на полоске Е-теста (32 мкг/мл). По этой причине отсутствовала возможность тестирования комбинаций антибиотиков с включением карбапенемов и левофлоксацина для этих изолятов.

Результаты тестирования 11 комбинаций антибиотиков представлены в табл. 2.

Для всех комбинаций с включением колистина (колистин+азтреонам, колистин+цефтазидим, колистин+амикацин, колистин + меропенем, колистин + левофлоксацин) отмечен нейтральный эффект ($\Sigma\text{ФПК}$ от 1,18 до 2,0). Комбинация азтреонам+амикацин проявила аддитивный эффект в отношении двух изолятов ($\Sigma\text{ФПК}$ 0,875 и 1,0), комбинация цефтазидим+амикацин была аддитивной для трех изолятов ($\Sigma\text{ФПК}$ 0,56; 0,875; 1,0), для остальных изолятов эффект данных ком-



Определение чувствительности клинического изолята *P. aeruginosa* 9226 VIM-2 (г. Минск) к меропенему (МР), амикацину (АК) и их комбинации модифицированным методом Е-тестов
 $MPK_{MP} = 16$ мкг/мл, $MPK_{AK} = 32$ мкг/мл, $MPK_{MP-AK} = 8$ мкг/мл,
 $MPK_{AK-MP} = 12$ мкг/мл.
 $ФПК_{MP} = 0,5$; $ФПК_{AK} = 0,375$; $SФПК = 0,875$ (аддитивный эффект)

бинаций нейтральный. Необходимо отметить, что MPK амикацина для всех изолятов, для которых в комбинациях был достигнут аддитивный эффект, в 3–8 раз превышала пограничные $ФК/ФД$ концентрации. Комбинация меропенем+амикацин была аддитивной для одного из трех изолятов ($SФПК$ 0,875, рисунок). Для остальных комбинаций антибиотиков выявлен только нейтральный эффект. Не обнаружено комбинаций антибиотиков с эффектом антагонизма.

Неутешительные результаты тестирования комбинаций антибиотиков можно частично объяснить высокими уровнями антибиотикорезистентности включенных в исследование изолятов *P. aeruginosa*, их клональной родственностью и как следствие — возможным присутствием однотипных механизмов антибиотикорезистентности, а также ограничениями использованного метода. Несмотря на очевидные преимущества (простота постановки теста, учета и интерпретации результатов) кросс-тест с использованием Е-тестов ориентирован на выявление бактериостатического действия антибиотиков и в ряде случаев его результаты дискордантны с результатами тестов, ориентированными на бактерицидный эффект (например — с результатами time-kill теста при изучении времязависимой бактерицидности).

Литература

1. Cornaglia G., Giamarellou H., Rossolini G.M. Metallo- β -lactamases: a last frontier for β -lactams? *Lancet Infect Dis* 2011; 11:381-93.

В систематическом обзоре, посвященном синергизму полимиксинов и карбапенемов, показана более высокая частота выявления синергидных взаимодействий при использовании time-kill-теста по сравнению с результатами, полученными с использованием Е-тестов или методом «шахматной доски» [14]. Еще одним ограничением является невозможность тестирования штаммов с высокими значениями MPK , превышающими максимальные концентрации препарата, имеющиеся на полоске Е-теста.

Заключение

Выявлены высокие уровни резистентности МБЛ-продуцирующих изолятов *P. aeruginosa* с многократным превышением пороговых $ФК/ФД$ -концентраций

для бета-лактамов, аминогликозидов и фторхинолонов. Все протестированные комбинации на основе колистина не проявляли синергидного эффекта. Обнаружены комбинации с аддитивным эффектом на основе амикацина, однако потенциал для клинического использования таких комбинаций представляется сомнительным в связи с высокими значениями MPK входящих в комбинации препаратов, многократно превышающими их пороговые $ФК/ФД$ концентрации.

Показана низкая активность коммерчески доступных препаратов бактериофагов в отношении экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *P. aeruginosa*. При проведении микробиологического исследования видится целесообразным одновременное тестирование нескольких потенциально эффективных коммерческих препаратов бактериофагов, что обусловлено существенными различиями в их качественном и количественном составе.

Расширение спектра активности препаратов для фаготерапии может быть достигнуто за счет включения в их состав новых литических синегнойных бактериофагов, выделенных из внешней среды. Обязательным условием использования обнаруженных фагов является изучение их безопасности с секвенированием фаговых геномов и доказательством отсутствия в них генопродуктов с токсическим эффектом и генов антибиотикорезистентности.

2. Magiorakos A.P., Srinivasan A., Carey R.B., et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18:268-81.

3. Эйдельштейн М.В., Скленова Е.Ю., Шевченко О.В. и др. Распространенность и молекулярная эпидемиология грамотрицательных бактерий, продуцирующих металло-бета-лактамазы, в России, Беларуси и Казахстане. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2012; 14(2):132-52.
4. Тапальский Д.В., Осипов В.А., Жаворонок С.В. Карбапенемазы грамотрицательных бактерий: распространение и методы детекции. *Медицинский журнал* 2012; 2:10-15.
5. Edelstein M.V., Skleenova E.N., Shevchenko O.V., et al. Spread of extensively resistant VIM-2-positive ST235 *Pseudomonas aeruginosa* in Belarus, Kazakhstan, and Russia: a longitudinal epidemiological and clinical study. *Lancet Infectious Diseases* 2013; 13(10):867-76.
6. Bassetti M., Righi E. Development of novel antibacterial drugs to combat multiple resistant organisms. *Langenbecks Arch Surg* 2015; 400:153-65.
7. Zavascki A.P., Bulitta J.B., Landersdorfer C.B. Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2013; 11:1333-53.
8. Lim T.P., Lee W., Tan T.Y., et al. Effective antibiotics in combination against extreme drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* with decreased susceptibility to polymyxin B. *PLoS One* 2011; 6(12):E28177.
9. Rahal J.J. Novel antibiotic combinations against infections with almost completely resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. *Clin Infect Dis* 2006; 43(Suppl. 2):S95-S99.
10. D'Souza B.B., Padmaraj S.R., Rekha P.D., et al. *In vitro* synergistic activity of colistin and ceftazidime or ciprofloxacin against multidrug-resistant clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microb Drug Resist* 2014; 20:550-4.
11. Ly N., Bulitta J.B., Rao G.G., et al. Colistin and doripenem combinations against *Pseudomonas aeruginosa*: profiling the time course of synergistic killing and prevention of resistance. *J Antimicrob Chemother* 2015; 70:1434-42.
12. Urban C., Mariano N., Rahal J.J. *In vitro* double and triple bactericidal activities of doripenem, polymyxin B, and rifampin against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54:2732-4.
13. Zavascki A.P., Carvalhaes C.G., Picao R.C., Gales A.C. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: resistance mechanisms and implications for therapy. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010; 8:71-93.
14. Zusman O., Avni T., Leibovici L., et al. Systematic review and meta-analysis of *in vitro* synergy of polymyxins and carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57:5104-11.
15. White R.L., Burgess D.S., Manduru M., Bosso J.A. Comparison of three different *in vitro* methods of detecting synergy: time-kill, checkerboard, and E test. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40:1914-8.
16. Larche J., Pouillot F., Essoh C., et al. Rapid identification of international multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clones by multiple-locus variable number of tandem repeats analysis and investigation of their susceptibility to lytic bacteriophages. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56:6175-80.
17. Viertel T.M., Ritter K., Horz H.P. Viruses versus bacteria—novel approaches to phage therapy as a tool against multidrug-resistant pathogens. *J Antimicrob Chemother* 2014; 69:2326-36.
18. Зурабов А.Ю., Каркищенко Н.Н., Попов Д.В. и др. Создание отечественной коллекции бактериофагов и принципы разработки лечебно-профилактических фаговых препаратов. *Биомедицина* 2012; 1:134-8.
19. Krylov V.N. Bacteriophages of *Pseudomonas aeruginosa*: long-term prospects for use in phage therapy. *Adv Virus Res* 2014; 88:227-78.
20. Каталог продукции ФГУП «НПО «Микроген»: [Электронный ресурс] //URL: <http://www.microgen.ru/products/bakteriofagi> (Дата обращения: 01.08.2016).
21. Labrie S.J., Samson J.E., Moineau S. Bacteriophage resistance mechanisms. *Nat Rev Microbiol* 2010; 8:317-27.
22. Габриэлян Н.И., Арефьева Л.И., Спирина Т.С., Горская Е.М. Чувствительность к бактериофагам микрофлоры субстратов пациентов кардиохирургического и трансплантологического профиля. *Материалы V Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням. Москва 2013:96-7.*
23. Габриэлян Н.И., Горская Е.М., Спирина Т.С. и др. Исследование антибиотико- и фагочувствительности нозокомиальных штаммов микробов, выделенных от пациентов трансплантологической клиники. *Вестник трансплантологии и искусственных органов* 2011; 3:26-32.
24. Карноухова О.Г., Коган Г.Ю., Боброва О.И., Ботвинкин А.Д. Устойчивость госпитальных изолятов синегнойной палочки к антибиотикам и бактериофагам. *Материалы V Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням. Москва 2013:184.*
25. Шевченко О.В., Эйдельштейн М.В., Степанова М.Н. Металло- β -лактамазы: значение и методы выявления у грамотрицательных неферментирующих бактерий. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2007; 9(3):211-8.
26. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 6.0, 2016. <http://www.eucast.org>
27. Krylov V., Shaburova O., Pleteneva E., et al. Selection of phages and conditions for the safe phage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Viol Sin* 2015; 30:33-44.
28. Henry M, Lavigne R, Debarbieux L. Predicting *in vivo* efficacy of therapeutic bacteriophages used to treat pulmonary infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57:5961-8.