

ПРАВИТЕЛЬСТВО МОСКВЫ
ДЕПАРТАМЕНТ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГОРОДА МОСКВЫ

«СОГЛАСОВАНО»

Главный внештатный специалист
по анестезиологии - реаниматологии
Департамента здравоохранения
города Москвы, к.м.н.

Д.Н. Проценко

« » 20 г.

«РЕКОМЕНДОВАНО»

Решением
Экспертного совета по
Департамента здравоохранения
города Москвы № 17



«30» 05 20 19 г.

**ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ ФАГОТЕРАПИЯ ПАЦИЕНТОВ,
СТРАДАЮЩИХ ИНФЕКЦИЯМИ, СВЯЗАННЫМИ С ОКАЗАНИЕМ
МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ (ИСМП)**

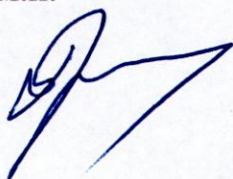
Методические рекомендации № 105

Москва, 20__ г.

ПРАВИТЕЛЬСТВО МОСКВЫ
ДЕПАРТАМЕНТ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГОРОДА МОСКВЫ

«СОГЛАСОВАНО»

Главный внештатный специалист
по анестезиологии - реаниматологии
Департамента здравоохранения
города Москвы, к.м.н.



Д.Н. Проценко

« ____ » _____ 20__ г.

«РЕКОМЕНДОВАНО»

Решением
Экспертного совета по науке
Департамента здравоохранения
города Москвы № ____

« ____ » _____ 20__ г.

**ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ ФАГОТЕРАПИЯ ПАЦИЕНТОВ,
СТРАДАЮЩИХ ИНФЕКЦИЯМИ, СВЯЗАННЫМИ С ОКАЗАНИЕМ
МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ (ИСМП)**

Методические рекомендации № ____

Москва, 20__ г.

Организация – разработчик: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница № 67 им. Л.А. Ворохобова Департамента здравоохранения города Москвы», Федеральное бюджетное учреждение науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека РФ.

Составители: Шкода А.С. - д.м.н., проф., главный врач ГБУЗ ГКБ № 67 им. Л.А. Ворохобова ДЗМ; Митрохин С.Д. - д.м.н., проф., заведующий отделом клинической фармакологии ГБУЗ ГКБ № 67 им. Л.А. Ворохобова ДЗМ; Ведяшкина С.Г. – заместитель главного врача по медицинской части ГБУЗ ГКБ № 67 им. Л.А. Ворохобова ДЗМ; Орлова О.Е. - к.б.н., заведующая микробиологической лабораторией ГБУЗ ГКБ № 67 им. Л.А. Ворохобова ДЗМ; Бастрикин С.Ю. – заведующий отделением анестезиологии – реанимации № 2 ГБУЗ ГКБ № 67 им. Л.А. Ворохобова ДЗМ; Галицкий А.А. – врач - клинический фармаколог отдела клинической фармакологии ГБУЗ ГКБ № 67 им. Л.А. Ворохобова ДЗМ; Афанасьев С.С. - д.б.н., проф., главный научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора; Алешкин В.А. - д.б.н., проф., научный руководитель ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора; Алешкин А.В. - д.б.н., главный научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора; Селькова Е.П. - д.м.н., главный научный сотрудник лаборатории диагностики и профилактики инфекционных заболеваний ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора; Новикова Л.И. - к.м.н., руководитель лаборатории иммунобиологических препаратов ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора; Бочкарева С.С. - к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунобиологических препаратов ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора; Киселева И.А. - к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора; Зилькарнеев Э.Р. - к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора; Рубальский Е.О. - к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора

Рецензент: В.Н. Царёв, профессор, доктор медицинских наук, директор Научно-исследовательского медико-стоматологического института (НИМСИ), заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии ФГБОУ ВО Московского государственного медико-стоматологического университета им. А.И. Евдокимова МЗ РФ, заслуженный работник высшей школы Российской Федерации.

Методические рекомендации посвящены проблемам диагностики, профилактики и лечения инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи – ИСМП. Представлены результаты собственных исследований по эффективности применения персонализированной фаготерапии у пациентов с ИСМП, находящихся в отделениях реанимации и интенсивной терапии.

Пособие адресовано врачам - клиницистам, врачам - клиническим фармакологам, врачам - эпидемиологам, врачам – бактериологам, врачам клинической лабораторной диагностики, работающим в стационарном звене медицинской помощи населению, научным работникам профильных НИИ, преподавателям и студентам медицинских ВУЗов.

Данный документ является собственностью Департамента здравоохранения города Москвы и не подлежит тиражированию и распространению без соответствующего раз-

Список сокращений.

- БОЕ – бляшкообразующая единица
ВБИ – внутрибольничные инфекции
ЕЭ/мл – единица эндотоксина
ИВЛ - ассоциированная пневмония – пневмония, связанная с искусственной вентиляцией лёгких
ИСМП – инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи
ИФА – иммуноферментный анализ
КОЕ – колониеобразующая единица
ЛПУ – лечебно-профилактическое учреждение
MALDI-TOF MS - матрично-активированная лазерная десорбция / ионизация, времяпролетная масс-спектрометрия
МЛУ – множественная лекарственная устойчивость
ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РА – реакция агглютинации
РАО – отделение анестезиологии-реанимации
РИА – радиоиммунный анализ
ТМБ - тетраметилбензидина гидрохлорид

Аннотация.

В методических рекомендациях предлагается алгоритм принятия решения при верификации у пациента инфекции, связанной с оказанием медицинской помощи (ИСМП) в стационаре, отражены концепции современной фаготерапевтической тактики как молекулярно-таргетной терапии, блокирующей развитие микроорганизмов с помощью вмешательства в механизм деления конкретных целевых бактериальных клеток.

Разработаны и апробированы принципы предлагаемой персонализированной фаготерапии на всех этапах сопровождения пациента любой соматической отягощённости инфекционного генеза.

Представлены результаты собственных исследований по эффективности применения персонализированной фаготерапии у пациентов с ИСМП, находящихся в отделениях реанимации и интенсивной терапии.

Содержание

Список сокращений	5
Аннотация	6
ИНФЕКЦИИ, СВЯЗАННЫЕ С ОКАЗАНИЕМ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ НАСЕЛЕНИЮ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ И ПУТИ ЕЕ РЕШЕНИЯ	8
Введение	8
Этиология ИСМП	9
Патогенез ИСМП	11
Клиническая картина ИСМП	13
Диагностика ИСМП	13
Лечение ИСМП	15
Роль бактериофагов в лечении бактериальных инфекций	16
Алгоритм проведения индивидуальной (персонализированной) фаготерапии в условиях отделений реанимации и интенсивной терапии ГКБ № 67 им. Л.А. Ворохобова	17
Метод персонализированной фаготерапии. Выделение и идентификация бактерий. Отбор вирулентных штаммов бактериофагов	19
Выявление антифагового иммунного ответа	20
Определение способов введения бактериофага. Способы введения бактериофага пациенту. Очаг инфекции и способ введения препаратов бактериофагов	23
Критерии эффективности персонализированной фаготерапии	25
РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ ФАГОТЕРАПИИ В КОМПЛЕКСНОЙ ПРОГРАММЕ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ИСМП В ОТДЕЛЕНИИ ОАРИТ ГКБ №67 им.Л.А. ВОРОХОБОВА	26
Цель работы	26
Материалы и методы	26
Результаты исследования	27
Выводы	29
Маршрутизация	29
Заключение	30
Литература	31

ИНФЕКЦИИ, СВЯЗАННЫЕ С ОКАЗАНИЕМ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ НАСЕЛЕНИЮ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ И ПУТИ ЕЕ РЕШЕНИЯ

Введение.

Инфекция, связанная с оказанием медицинской помощи (ИСМП), или нозокомиальная (госпитальная, внутрибольничная) инфекция, представляет собой любое клинически выраженное заболевание микробного происхождения, которое поражает больного в результате его поступления в стационар или обращения за медицинской помощью вне зависимости от появления симптомов заболевания у пациента во время пребывания в стационаре или после его выписки, а также инфекционное заболевание сотрудника лечебной организации в следствие его инфицирования при работе в данной организации [3]. К наиболее часто встречающимся ИСМП могут быть отнесены пневмонии, ассоциированные с искусственной вентиляцией легких (ИВЛ-ассоциированные пневмонии), катетер-ассоциированные инфекции мочевых путей и кровотока [13].

Регистрируется растущая резистентность штаммов-возбудителей ИСМП к большинству антибиотиков и их широкое распространение в условиях внутрибольничной среды. Установлено, что 5-10% находящихся в стационарах пациентов страдают ИСМП, что соответствует 2-2,5 млн человек в год [13]. С учетом высокой смертности, достигающей в отделениях высокого риска, к которым в первую очередь относятся отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), 80%, ИСМП занимают десятую строчку в ряду причин смертности населения нашей страны [22].

Наиболее часто среди возбудителей ИСМП обнаруживают антибиотикорезистентные микроорганизмы, зачастую обладающие множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), способные формировать резистентность к основным классам антимикробных препаратов [9, 24, 25, 30, 39, 40, 48].

Одним из альтернативных подходов к уничтожению патогенных бактерий практически во всех без исключения отраслях производственной деятельности человека, включая медицину, являются бактериофаги [6]. Индивидуализированный (персонифицированный) алгоритм подбора подразумевает подбор штаммового состава бактериофагов с учетом быстрого изменения циркулирующих штаммов-возбудителей и формирования антифагового иммунитета, использование различных лекарственных форм бактериофагов и способов их введения, обеспечивая максимальную доставку фагов к очагу инфекции и длительное персистирование в нем [7].

Этиология ИСМП.

Перечень возбудителей ИСМП включает представителей различных таксономических групп, относящихся к бактериям, вирусам, простейшим и грибам [19]. Примерно 90% всех внутрибольничных инфекций (ВБИ) имеют бактериальное происхождение, а вирусные, грибковые возбудители и простейшие встречаются значительно реже [16, 20, 29].

Различают ИСМП, вызванные облигатными патогенными микроорганизмами: традиционные классические инфекционные заболевания – детские инфекции (корь, дифтерия, скарлатина, краснуха, паротит и др.), кишечные инфекции (сальмонеллёз, шигеллёзы и др.), вирусные гепатиты В и С. Их возникновение в стационаре может значительно осложнить течение основного заболевания, особенно в условиях детских больниц и родовспомогательных учреждений. На долю этих заболеваний приходится примерно 15% ИСМП. Кроме того, различают ИСМП, вызываемые условно-патогенными микроорганизмами. Эта группа представляет совокупность различных по клиническим проявлениям и этиологии инфекционных заболеваний, находящихся в причинно-следственной связи с лечебно-диагностическим процессом. Структуру этих болезней определяют гнойно-воспалительные заболевания, проявляющиеся локальными воспалительными процессами с нагноением или без него и имеющие склонность к генерализации и развитию сепсиса. Отдельные нозологические формы, входящие в группу гнойно-воспалительных заболеваний, включены в Международной классификации болезней в различные рубрики [39, 49]. Перечень гнойно-воспалительных заболеваний насчитывает более 80 самостоятельных нозологических форм. Среди возбудителей доминируют стафилококки, стрептококки, грамотрицательные бактерии (кишечная палочка, клебсиеллы, протей, серрации, ацинетобактерии и др.). Нередки случаи внутрибольничного заражения псевдомонадами, легионеллами, ротавирусом.

ИСМП обычно вызывают госпитальные штаммы микроорганизмов. Под госпитальным штаммом следует понимать адаптированный к конкретным условиям стационара возбудитель определенного вида, резистентный к лечебным, дезинфекционным и другим условиям лечебно - профилактического учреждения, вызвавший не менее двух клинически выраженных случаев заболевания у больных или персонала. Циркулирующие в стационарах возбудители ИСМП постепенно формируют госпитальные штаммы, наиболее эффективно адаптированные к местным особенностям того или иного отделения [23, 29]. Так, в хирургических стационарах общего профиля, доминирует кишечная палочка, в урологических – кишечная палочка, протей, синегнойная палочка, клебсиеллы, а в травматологических – золотистый стафилококк, синегнойная палочка, протей. При этом иногда наблюдается более или менее четкая закономерность смены возбудителя в ране пациента: стафилококк, затем синегнойная палочка. *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa* лидируют в составе грамотрицательной микрофлоры, вызывающей гнойно-септические инфекции у пациентов ожоговых стационаров и пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии [17].

Способность этих микроорганизмов формировать госпитальные популяции, устойчивые ко всем классам применяемых антибиотиков, ряду дезинфектантов и антисептиков, существенно снижает эффективность не только лечебных, но и профилактических мероприятий, направленных на элиминацию синегнойной и ацинетобактерной инфекций в стационарах [48, 51].

Появление новых классов антибактериальных препаратов, совершенствование реанимационных технологий и внедрение в практику «традиционных» программ инфекционного контроля существенным образом не повлияло на заболеваемость инфекциями ацинетобактерной и синегнойной этиологии в стационарах различного профиля.

Наиболее клинически значимым видом рода *Acinetobacter* является *Acinetobacter baumannii* (геномовид 2), который вызывает 2-10% граммотрицательных инфекций в Европе и США, до 1% всех нозокомиальных инфекций. *A.baumannii* в большинстве случаев вызывает заболевания у тяжелобольных иммунокомпрометированных пациентов. Данный микроорганизм может являться причиной инфекций дыхательных путей (синусит, трахеобронхит, пневмония), кровотока (сепсис, эндокардит естественных и искусственных клапанов), мочевыводящих путей, раневой и хирургической инфекций, инфекций кожи и мягких тканей (включая некротизирующий фасциит), нервной системы (менингит, венитрикулит, абсцесс мозга), интраабдоминальных областей (абсцессы различной локализации, перитонит), опорно-двигательного аппарата (остеомиелит, артрит).

В структуре *A.baumannii* - ассоциированных инфекций преобладают инфекции кровотока, составляя 39,4% от всех инфекций, вызванных данным возбудителем. При этом входными воротами инфекции чаще всего являются дыхательные пути, при первичном развитии септического процесса основную роль играют внутрисосудистые катетеры, реже входными воротами служат мочевыводящие пути, кожа и мягкие ткани, ожоговые поверхности, органы брюшной полости и центральная нервная система. Внутрибольничный сепсис, вызванный *A.baumannii*, в 73% случаев развивается после 15-го дня госпитализации. Септический шок регистрируют у 30% пациентов с ацинетобактер-ассоциированным сепсисом. Второе место занимают инфекции дыхательных путей (35,4%). При этом *A.baumannii*, наряду с *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* и метициллин-резистентным *Staphylococcus aureus* (MRSA), является возбудителем поздних (развивающихся через 5 дней с момента госпитализации) эпизодов нозокомиальной пневмонии. Третье место (19,7%) – инфекции кожи и мягких тканей (включая инфекции хирургической раны). При этом *A.baumannii* является значимым патогеном при травматических повреждениях, ожогах, а также в отношении инфекционных осложнений послеоперационных ран. Инфекции кожи и мягких тканей, вызванные *A.baumannii*, в большинстве случаев осложняются бактериемией. Ацинетобактерии способны вызывать инфекции подкожной жировой клетчатки в месте постановки внутривенного катетера. Остеомиелиты наблюдаются в 4,7% случаев, инфекции мочевыводящих путей – в 0,8% случаев.

Микроорганизмы рода *Pseudomonas* относятся к группе неферментирующих грамотрицательных бацилл, являются свободно живущими бактериями, чрезвычайно распространенными в окружающей среде, используемыми в качестве источника энергии почти все природные органические соединения. В естественных условиях патогенны и для человека, и для животных. Патогенность синегнойной палочки детерминирована способностью к инвазии и персистенции в тканях, а также к цитотоксическому эффекту и стимуляции генерализованной воспалительной реакции. *P. aeruginosa* вызывает 21-39,7% случаев нозокомиальных пневмоний, 11- 18% случаев инфекций мочевыводящих путей, 13% случаев раневой инфекции и 5- 13,8% случаев инфекций кровотока.

Klebsiella pneumoniae в норме входит в состав нормальной флоры кишечника. Палочка вызывает редкое острое воспаление легких в сочетании с поражениями желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы, а также других органов и систем, если ее количество в организме человека превышает допустимые нормы. Ее показатель определяется в лабораторных условиях через выделения человека (кал, моча, мазки). Тяжесть заболевания зависит от состояния общего иммунитета пациента. *Klebsiella pneumoniae* устойчива во внешней среде, к высоким температурам и многим антибактериальным препаратам, поэтому очень трудно подобрать нужное лечение больному с такой патологией. *Klebsiella pneumoniae* способна размножаться и жить в условиях отсутствия кислорода. Она хорошо сохраняется в почве, пыли, воде, пищевых продуктах. Несмотря на то, что в допустимых количествах *K.pneumoniae* присутствует у всех здоровых людей в желудочно-кишечном тракте, на коже, в органах мочеполовой системы, на слизистых органах дыхания, при снижении иммунитета, вызванного рядом причин, этот микроорганизм размножается и вызывает тяжелые патологии (ослабленный иммунитет у новорождённых и недоношенных детей, у людей с частыми ОРЗ и гриппом, страдающих сахарным диабетом, у пожилых людей, у хронических больных различными заболеваниями, при длительном приеме антибиотиков).

Staphylococcus aureus (стафилококк золотистый) – это самый болезнетворный из всех стафилококков, который у человека вызывает различные гнойно-воспалительные заболевания. Принадлежит он к роду стафилококков (*Staphylococcus*), входящему в семейство микрококков, т.е. штаммы этих бактерий постоянно находятся в больничных учреждениях, и приводят к появлению внутривидовых гнойничковых заболеваний и раневых инфекций.

Патогенез ИСМП.

На протяжении последних лет во всем мире отмечается значительный рост устойчивости возбудителей внебольничных и нозокомиальных инфекций к антимикробным препаратам. Возникновение антимикробной резистентности является естественным биологическим ответом микроорганизма на использование антимикробных препаратов, которые создают селективное давление, способствующее отбору, выживанию и размножению резистентных штаммов.

Резистентность к антимикробным препаратам имеет огромное социально-экономическое значение и в развитых странах мира рассматривается как угроза национальной безопасности. Инфекции, вызванные резистентными штаммами микроорганизмов, отличаются длительным течением, чаще требуют госпитализации и увеличивают продолжительность пребывания пациента в стационаре, ухудшая прогноз терапии [23]. При неэффективности препаратов выбора лечащему врачу приходится использовать антибактериальные средства второго или третьего ряда, которые, зачастую, более дороги, менее безопасны и не всегда доступны. Все это увеличивает прямые и не прямые экономические затраты на лечение и реабилитацию, а также повышает риск распространения резистентных штаммов в обществе.

Инфекции, ассоциированные с оказанием медицинской помощи, развиваются в результате взаимодействия между микро- и макроорганизмом в специфической окружающей среде – стационаре. Эндогенные (т.е. связанные с пациентом) и экзогенные (т.е. связанные со стационаром) факторы могут потенцировать патогенность возбудителя или нарушать защитные механизмы макроорганизма. Более 80% всех нозокомиальных инфекций имеют эндогенное происхождение, то есть вызываются микроорганизмами, которые колонизировали пациента до его поступления в стационар. После госпитализации микрофлора стационара быстро колонизирует пациентов и становится частью комменсальной микрофлоры. При определенных обстоятельствах эти микроорганизмы могут вызывать так называемые «экзогенные инфекции».

Эти инфекции являются более редкими по сравнению с эндогенными и большинство их возбудителей передается путем непосредственного контакта с пациентом, например, через руки, хотя определенная роль принадлежит передаче через контаминированное оборудование или материалы. Примерно половина всех ИСМП связана с проведением инвазивных диагностических и терапевтических процедур (например, с постановкой мочевыводящих и внутрисосудистых катетеров, с подключением аппаратов искусственной вентиляции легких).

На частоту ИСМП оказывают влияние эндогенные факторы: пол, возраст, иммунный статус, клинические симптомы, состояние питания, наличие и тяжесть сопутствующих болезней. Эти факторы определяют риск развития инфекции у пациента в момент поступления его в стационар. Увеличение продолжительности жизни, особенно у пациентов с тяжелыми хроническими болезнями, привело к повышению численности более чувствительной к возникновению инфекции популяции. Кроме наличия сопутствующих заболеваний, вероятность развития ИСМП в значительной мере определяют нарушения физиологических функций у пациента.

К экзогенным факторам относятся факторы риска, которые увеличивают вероятность контакта между инфекционным агентом и макроорганизмом, способствуя инвазии тканей, повышая патогенность микроорганизмов или нарушая защитные механизмы макроорганизма. Все инвазивные мероприятия, от постановки мочевыводящего катетера при цистоскопии до сложных хирургических операций, относят к указанным факторам риска. Другими

экзогенными факторами являются лечебные мероприятия: антимикробная терапия, переливание крови и кровезаменителей, лечение кортикостероидами и цитостатиками. Селективное давление антибиотиков – важный фактор, влияющий на структуру ИСМП, что подтверждается эволюционными изменениями возбудителей за последние 40 лет. Антибиотикорезистентность возбудителей ИСМП представляет значительную терапевтическую проблему практически во всех стационарах. Примерно 50% всех ИСМП вызывается резистентными к антимикробным препаратам грамположительными и грамотрицательными микроорганизмами [48, 51]. Быстрое распространение таких штаммов и возникновение эпидемических вспышек определяются транзитной контаминацией этими штаммами рук медицинского персонала, окружающей среды, а также частым использованием антимикробных препаратов.

Клиническая картина ИСМП.

Клиническая симптоматика ИСМП зависит от характера инфекции, вирулентности микроорганизмов, путей заражения, первичной локализации инфекции, состояния пациента в момент заражения. Всё это сопровождается разнообразной симптоматикой и определённой стадийностью развития процесса. По длительности течения ИСМП можно разделить на острые, подострые, хронические. По клиническим проявлениям эти инфекции бывают легкими, средней тяжести и тяжелыми. По степени распространения инфекции различают две формы: генерализованные и локализованные. Генерализованная форма заболевания – это патологическое течение процесса, охватывающее разные системы и органы (наличие первичного очага с последующим охватом иных зон). Генерализованный вариант может быть при распространении на другие ткани того же органа либо при охвате организма в целом. При этом заражение проявляется бактериемией, септициемией и бактериальным шоком. Что касается локальных форм, то выделить можно следующие типы инфицирования:

- ✓ поражение кожных покровов, слизистых и подкожной клетчатки, к которым относят абсцессы, флегмоны, рожу, мастит, парапроктит, грибок кожи и другие;
- ✓ заболевания полости рта и ЛОР-органов: стоматит, ангина, фарингит, отит, синусит и прочие;
- ✓ проникновение патогенных микроорганизмов в легкие и бронхи, что вызывает развитие пневмонии, бронхита;
- ✓ поражение желудочно-кишечного тракта;
- ✓ конъюнктивиты и другие инфекционные заболевания глаз;
- ✓ инфекции мочеполовой сферы;
- ✓ поражение нервной и сердечно - сосудистой системы;
- ✓ инфицирование мягких и костных тканей.

Диагностика ИСМП.

Критериями, позволяющими предполагать развитие внутрибольничной инфекции, служат:

- ✓ возникновение клинических признаков заболевания не ранее чем через 48 часов после поступления в стационар;
- ✓ связь с проведением инвазивного вмешательства;
- ✓ установление источника инфекции и фактора передачи.

Окончательное суждение о характере инфекционного процесса получают после идентификации штамма возбудителя с помощью лабораторных методов диагностики [32]. Для исключения или подтверждения бактериемии проводится бактериологический посев крови на стерильность, желательно не менее 2-3-х раз. При локализованных формах внутрибольничной инфекции микробиологическое выделение возбудителя может быть произведено из других биологических сред, в связи с чем выполняется посев мочи, кала, мокроты, отделяемого ран, материала из зева, мазка с конъюнктивы, из половых путей на микрофлору. Дополнительно к культуральному методу выявления возбудителей внутрибольничных инфекций используются микроскопия, серологические реакции (РСК, РА, ИФА, РИА), вирусологический, молекулярно-биологический (ПЦР) методы.

Выявление воспалительной реакции, её распространённости (локальная или генерализованная), а также контроль эффективности лечения проводится исследованием периферической крови с учётом:

- ✓ повышения уровня лейкоцитов со сдвигом влево (регистрируется у 50 % пациентов);
- ✓ повышения скорости оседания эритроцитов – СОЭ (регистрируется у 80% пациентов);
- ✓ повышения уровня С-реактивного белка – СРБ (регистрируется более чем у 90% пациентов);
- ✓ повышения уровня фибриногена в 2-3 раза выше нормы;
- ✓ нарушения показателей иммунитета (число Т- и В-лимфоцитов и их субпопуляций, уровни циркулирующих иммунных комплексов – ЦИК, концентрация иммуноглобулинов, активность фагоцитов);
- ✓ повышения уровня прокальцитонина.

Наиболее информативно исследование СРБ – раннего предиктора воспаления. Его синтез увеличивается через 6 ч. от начала воспаления, а концентрация в крови возрастает в 10-100 раз в течение 24-48 часов после начала воспаления (табл. 1). Наиболее высокие уровни СРБ (>100 мкг/л) наблюдаются при тяжелой бактериальной инфекции. Прогрессивное увеличение СРБ связано с активностью воспалительного процесса и степенью повреждения тканей. СРБ – более чувствительный показатель активного воспаления, чем СОЭ, он повышается и исчезает раньше, чем изменяется СОЭ.

Интерпретация результатов исследования СРБ.

Уровень СРБ, мкг/л	Интерпретация результатов
0 - 5	Норма
6 - 10	Хронические инфекции, ревматические заболевания
11 - 39	Вирусная инфекция, метастазы опухолей
40 - 200	Локальное острое воспаление
> 200	Генерализованная инфекция

Повышение содержания СРБ предшествует появлению лихорадки, боли и других признаков болезни. В неосложнённом послеоперационном периоде СРБ достигает максимальных значений на 3-й день с последующим снижением до нормального уровня в течение недели. Сохранение высоких значений СРБ и отсутствие его постепенного снижения указывает на присоединение инфекции. Уровень СРБ может быть повышен у пациентов с онкологическими и гематологическими заболеваниями, при инфарктах сердца и головного мозга, заболеваниях уха, горла, носа и при обострениях хронических заболеваний.

Обязательным является посев крови на стерильность. Забор крови на высоте лихорадки выполняется не через катетер, а через пункцию интактной вены (как правило, кубитальной) с интервалом 15-20 минут 2 раза до начала антибактериальной терапии (кровь распределяют в два флакона для аэробной и анаэробной инкубации).

Лечение ИСМП.

Сложности лечения внутрибольничной инфекции обусловлены ее развитием в ослабленном организме, на фоне основной патологии, а также резистентностью госпитальных штаммов к препаратам традиционной антимикробной фармакотерапии. Больные с диагностированными инфекционными процессами подлежат изоляции; в отделении проводится тщательная текущая и заключительная дезинфекция. Выбор противомикробного препарата основывается на особенностях антибиотикограммы: при внутрибольничной инфекции, вызванной грамположительной флорой, наиболее эффективен ванкомицин; грамотрицательными микроорганизмами – карбапенемы, цефалоспорины IV поколения, аминогликозиды. Возможно дополнительное применение специфических бактериофагов, иммуностимуляторов, интерферона, лейкоцитарной массы, витаминотерапии. При необходимости проводится чрескожное облучение крови, экстракорпоральная гемокоррекция (гемосорбция, лимфосорбция). Симптоматическая терапия осуществляется с учетом клинической формы внутрибольничной инфекции с участием специалистов соответствующего профиля: хирургов, травматологов, пульмонологов, урологов, гинекологов и др.

Роль бактериофагов в лечении бактериальных инфекций.

Наиболее часто среди возбудителей ИСМП обнаруживают антибиотикорезистентные микроорганизмы, зачастую обладающие МЛУ, способные формировать резистентность к основным классам антимикробных препаратов.

Одним из альтернативных подходов к уничтожению патогенных бактерий практически во всех без исключения отраслях производственной деятельности человека, включая медицину, являются бактериофаги [1, 2, 4, 12, 14, 18, 21, 28, 31, 33, 36, 44, 53].

Препараты бактериофагов с успехом применяют для лечения гнойно-воспалительных и энтеральных заболеваний, вызванных бактериями родов *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterococcus*.

Благодаря узкой специфичности действия, бактериофаги, в отличие от антибиотиков, не угнетают нормальную микрофлору биотопов хозяина, не подавляют иммунной защиты, а также не вызывают аллергизации организма. Возможность преодоления первичной фагоустойчивости бактерий обеспечивает актуальность этой группы препаратов в отношении современных возбудителей гнойно-воспалительных инфекций. Поэтому лечебно - профилактические бактериофаги как антибактериальные препараты специфической направленности приобретают все большую актуальность и востребованность для практического здравоохранения.

В отличие от антибиотиков препараты бактериофагов:

- ✓ при размножении самостоятельно регулируют свою численность (увеличивая или уменьшая ее), поскольку размножаются только до тех пор, пока имеются чувствительные бактерии, а затем постепенно элиминируются из организма и окружающей среды;
- ✓ более специфичны, чем большинство антибиотиков; будучи нацелены на конкретные проблемные бактерии, вызывают гораздо меньшее повреждающее действие на микробный баланс организма, в то время как бактериальный дисбаланс, или «дисбиоз», вызванный использованием антибиотиков, может привести к серьезным вторичным инфекциям с участием достаточно резистентных бактерий, увеличивающим затраты на лечение;
- ✓ имеют незначительное число побочных эффектов;
- ✓ применимы у лиц с аллергическими реакциями на антибиотики и антисептики;
- ✓ эффективны в качестве дезинфицирующих средств для санации больниц и борьбы с нозокомиальными инфекциями;
- ✓ сочетаемы при использовании с другими антибиотиками для уменьшения вероятности развития приобретенной резистентности бактерий;
- ✓ не воздействуют на препараты эубиотиков и пробиотиков, что дает возможность для их совместного применения;
- ✓ эффективны против микроорганизмов с МЛУ, что предос-

твляет возможность расценивать их как альтернативу антибиотикам и антисептическим средствам.

Эффективность серийно выпускаемых препаратов бактериофагов, как правило, высока лишь в случае внебольничных кишечных и респираторных инфекций, вызываемых в т.ч. антибиотикорезистентными возбудителями. Однако, при производстве этих препаратов, разработчики не учитывают следующие факторы:

- ✓ быструю смену циркулирующих в лечебно-профилактических учреждениях (ЛПУ) полирезистентных штаммов – возбудителей ИСМП,
- ✓ возможное формирование антифагового иммунитета у пациентов на фоне проводимой фаготерапии,
- ✓ фармакокинетические свойства бактериофагов, входящих в используемые при лечении фаговые препараты - консорциумы,
- ✓ результаты молекулярно - генетических исследований бактериофагов, зачастую свидетельствующие о наличии умеренных фагов в серийно производимых препаратах бактериофагов (умеренные фаги ускоряют эволюционный процесс возбудителей ИСМП в ЛПУ, повышая их вирулентность и расширяя спектр антибиотикорезистентности) и т.д.

В ГКБ №67 им. Л.А. Ворохобова совместно с МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского был разработан алгоритм персонализированной фаготерапии пациентов ОРИТ, страдающих ИСМП.

Алгоритм проведения индивидуальной (персонализированной) фаготерапии в условиях отделений реанимации и интенсивной терапии ГКБ № 67 им. Л.А. Ворохобова.

1. Фаготерапия проводится в случае недостаточной клинической эффективности применяемой антибактериальной терапии и лабораторного подтверждения наличия в биологическом материале, полученном от пациента, патогенов (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*), устойчивых к действию трёх и более антибактериальных лекарственных средств (штаммы с МЛУ);

2. Целесообразность проведения биотерапии с использованием бактериофагов определяется в рамках врачебной комиссии, создаваемой на базе ОРИТ (в будущем – специально созданного Центра персонализированной фаготерапии) больницы;

3. Запускается разработанная «дорожная карта» процесса:

- ✓ в течение 1 суток определяется возможность фаготерапии для пациента, учитывая данные о чувствительности выделенных штаммов к бактериофагам имеющегося банка фагов;
- ✓ проводится первичный забор и отправка в лабораторию крови для оценки иммунологического ответа пациентов, инфициро-

ванных чувствительными к бактериофагам банка бактериальными штаммами;

✓ через 2-3 суток подобранный препарат бактериофагов отправляется к пациенту, находящемуся в ОРИТ больницы.

4. Препарат индивидуально подобранных бактериофагов применяется в соответствии с инструкцией к медицинскому применению.
5. С целью контроля эффективности проводимой фаготерапии, каждые 5 суток проводят бактериологическое исследование биоматериала пациента.
6. В случае отсутствия микробиологической эффективности применяемого препарата бактериофагов (элиминации бактерий из инфицированного локуса, либо значительного снижения уровня контаминации (КОЕ/г) бактерий: на 3-4 порядка), проводится:
 - ✓ забор и передача в лабораторию образцов крови пациента для оценки наличия антифагового иммунитета на вводимые препараты бактериофагов;
 - ✓ проведение повторного курса фаготерапии (со сменой набора фагов при нечувствительности возбудителя к применяемому препарату бактериофагов или развитии реакций антифагового иммунитета) до достижения критериев клинической и микробиологической эффективности фаготерапии или достижения общей продолжительности фаготерапии, указанной в инструкции по медицинскому применению препаратов фагов.

Как показал наш опыт применения методики персонализированной фаготерапии пациенту с ИСМП, обусловленному наличием МЛУ- штаммов бактерий, при соблюдении данного алгоритма эффективность проводимого лечения заметно повышалась за счет:

- ✓ повышения точности определения чувствительности возбудителей к тестируемым штаммам бактериофагов и повышения объективизации наличия антифагового иммунитета у больных;
- ✓ установления индивидуальных доз вводимого препарата с учетом отношения количества бактериофагов к титру бактерий - возбудителей;
- ✓ выбора оптимальных лекарственных форм и способов их введения путем учета локализации инфекционного очага и фармакокинетики отобранных фага или фагов.

Метод персонализированной фаготерапии. Выделение и идентификация бактерий. Отбор вирулентных штаммов бактериофагов.

Для эффективного лечения ИСМП, обусловленных госпитальными штаммами бактерий с МЛУ, проводят персонализированную фаготерапию в дополнение к антибиотикотерапии [34].

Для этого была разработана и предложена следующая «дорожная карта».

Сначала выделяют от больного и идентифицируют штаммы бактерий-мишеней. Для этого используют микробиологические методы с посевом патологического материала на несколько видов питательных сред и использованием отечественных и импортных коммерческих биохимических тест-систем. Видовую идентификацию труднокультивируемых микроорганизмов проводят масс-спектрометрическим методом с использованием времяпролетного масс-спектрометра - MALDI-TOF MS. На основании определения чувствительности/резистентности выделенных бактериальных штаммов к антимикробным средствам (антибиотикам, антисептикам) определяют возбудителей ИСМП. Микроорганизмы могут быть тестированы иммуноферментным методом для идентификации фактора, обеспечивающего резистентность. Известные локусы антибиотикорезистентности регистрируют с помощью амплификации со специфическими праймерами методом ПЦР [10].

Далее отбирают вирулентные штаммы бактериофагов*, специфически лизирующие эти патогенные микроорганизмы.

При подборе бактериофагов сначала определяют в две стадии чувствительность выделенных от больного бактерий - мишеней к отдельным штаммам вирулентных фагов. На первой стадии используют спот - тест на чашке с бактериальным газоном, посеянным на плотной питательной среде, содержащей 1,5-2 % агара, отбирая фаг или фаги, под воздействием которых произошел полный или частичный лизис бактериального газона или в зоне нанесенного пятна есть отдельные негативные колонии. На второй стадии отобранные фаг или фаги каплей объемом 10-100 мкл наносят поверх застывшего второго слоя агаризованной среды в чашку или чашки Петри. При этом первым слоем наносят 1,5-2% питательный агар, на который после его застывания, вторым слоем наносят 0,7% агаризованную среду, содержащую выделенную от больного бактериальную культуру. Для нанесения используют бактериофаги в титре, обеспечивающем множественность инфицирования от 0,01 до 1 с учетом титра бактерии-мишени, высеянной из очага инфекции. На второй стадии определения чувствительности выделенных от больного бактерий-мишеней к отдельным штаммам вирулентных фагов чашка Петри может быть разделена на сектора для проверки различных разведений фага и/или разных фагов на одной чашке одновременно. Возможны сложности в интерпретации частичного лизиса бактериального газона в зоне пятна, который может отражать как недостаточный титр бактериофага, так и наличие в культуре бактерии-мишени двух фаготипов, входящих в препарат: чувствительного к бактериофагам и фагорезистентного. Разрешить сомнения можно

с помощью второго этапа определения чувствительности выявленного возбудителя к тестируемому фагу.

*используются штаммы бактериофагов, входящие в лекарственные препараты бактериофагов, активные в отношении возбудителей, вызывающих ИСМП (препараты произведены в период 2015-2018 гг.) Все штаммы прошли дополнительные микробиологические и молекулярно-генетические исследования (полногеномное секвенирование с последующим биоинформационным анализом), исключающие наличие в препарате умеренных бактериофагов [26,27,50]. Из отобранных штаммов сформирован банк бактериофагов. Фаголизаты контролируются на содержание эндотоксина (не более 50 ЕЭ/мл).

Второй этап позволяет оценить эффективность фаговой инфекции, т.е. удостовериться в возможности размножения фаговых частиц на штамме-возбудителе при их попадании *in vivo* в очаг воспаления в титре, соизмеримом с концентрацией вирионов в раститрованном испытуемом препарате. Выбирают фаг или фаги, под воздействием которых произошло формирование отдельных негативных колоний или сливной лизис бактериальной культуры. Учет результатов на первой и второй стадии проводят после инкубации чашек при 37°C в течение 18 часов.

Использование двухэтапного определения чувствительности выделенных микроорганизмов к тестируемым фагам позволяет исключить все сомнительные случаи, отобрать штаммы бактериофагов, способные к репликации на бактерии-мишени *in vivo*.

Выявление антифагового иммунного ответа.

С помощью иммуноферментного анализа определяют возможное присутствие в сыворотке пациента IgG-антител к выбранному фагу или фагам, наблюдаемое при наличии соответствующего антифагового иммунитета, сформировавшегося после первого курса фаготерапии, проведенного в клинике или при самолечении, не отмеченном в анамнезе. Антифаговый иммунитет может привести к неэффективности повторного курса фаготерапии с использованием бактериофагов, назначавшихся больному ранее [5, 11, 37, 38, 41, 42, 45, 47, 52, 54].

Нежелательный антифаговый иммунный ответ может проявиться на фоне бактериофаг - опосредованной биодезинфекции помещения, где расположен больной, так как фаги, используемые для обработки больничной среды и в составе коммерческих препаратов бактериофагов, используемых для терапии, совпадают. Для объективного подтверждения необходимости смены фага проводят определение IgG-антител к конкретным бактериофагам.

Может быть использована методика определения IgG-антител к бактериофагам с помощью иммуноферментного анализа (ИФА), которая включает следующие этапы:

1. *Получение кроличьей антисыворотки к бактериофагу для контроля работы конъюгата при проведении ИФА.*

Для получения антисыворотки проводят цикл внутримышечных иммунизаций кролика-продуцента, состоящий из нескольких (более 3-х) инъекций [15].

Схема иммунизации:

- ✓ 0,5 мл полного адьюванта Фрейнда + 0,5 мл раствора фага (концентрация 10^8 - 10^{10} БОЕ/мл);
- ✓ через 10 дней 0,25 мл неполного адьюванта Фрейнда + 0,25 мл раствора фага в том же титре;
- ✓ через 20 дней 0,1 мл неполного адьюванта Фрейнда + 0,1 мл раствора фага в том же титре;
- ✓ через 30 дней 0,5 мл неполного адьюванта Фрейнда + 0,5 мл раствора фага в том же титре.

Полученная после иммунизации кролика сыворотка содержит соответствующие антитела, если выявляются дуги преципитации по методу Оухтерлони.

2. Конструирование иммуноферментной тест-системы и проведение ИФА.

✓ Сорбируют антиген в лунках полистиролового планшета. В лунки планшета вносят по 100 мкл бактериофага в концентрации 10^8 - 10^{10} БОЕ/мл, закрывают пленкой и оставляют на 18-20 часов при $+(2-8)^{\circ}\text{C}$. В последние лунки рядов антиген не вносят – данные лунки являются отрицательным контролем в отсутствии антигена.

✓ После инкубации удаляют содержимое лунок (резко встряхивают) и промывают планшет 5-6 раз в моющем растворе (забуференный фосфатами физиологический раствор с твином – PBS-T). После промывки тщательно удаляют промывочный раствор, постукивая планшетом по фильтровальной бумаге, сложенной в несколько раз, для полного удаления жидкости из лунок. При необходимости планшет с сорбированным бактериофагом можно герметично упаковать и хранить при температуре $-(15-20)^{\circ}\text{C}$ до использования. Перед работой планшет размораживают при комнатной температуре в течение 30 минут.

✓ Разводят исследуемую сыворотку в PBS-T. Минимальное разведение сыворотки 1:100.

✓ Вносят исследуемые образцы и контроли по 100 мкл в лунки планшета.

✓ В качестве положительного контроля вносят сыворотку, полученную из пула, заведомо содержащего IgG-антитела к тестируемому бактериофагу.

✓ В качестве контроля работы конъюгата вносят сыворотку иммунизированного одноименным бактериофагом кролика.

✓ В качестве дополнительного отрицательного контроля вносят физиологический раствор.

✓ Инкубируют планшет 60 мин при $+37^{\circ}\text{C}$ со встряхиванием при 700 об/мин.

✓ После инкубации промывают планшет 5-6 раз как описано ранее.

✓ Для выявления связавшегося с сорбированным антигеном иммуноглобулина G, используют конъюгат Protein A-Peroxidase. Данный конъюгат был выбран на том основании, что содержащийся в нем реагент Protein A стафилококка имеет сродство к иммуноглобулинам G разных видов млекопитающих, в том числе человека и кролика.

✓ Рабочее разведение конъюгата предварительно подбирают в каждом случае индивидуально, поскольку оно зависит от иммуногенности и аффинности конкретного фага [43] (подбирают разведение конъюгата, соответствующее его концентрации, вносимой в лунки планшета, содержащие сорбированный антиген, и ряд разведений сыворотки иммунизированного кролика, для достижения значений оптической плотности в диапазоне больше 0,4 и меньше или равной 1,0). Для разведения конъюгата используют PBS-T.

✓ Во все лунки планшета вносят по 100 мкл конъюгата в рабочем разведении.

✓ Инкубируют планшет 60 мин при $+37^{\circ}\text{C}$ со встряхиванием при 700 об/мин.

✓ Промывают планшет как описано ранее.

✓ Во все лунки планшета вносят по 100 мкл субстратного раствора, содержащего 3,3',5,5' тетраметилбензидина гидрохлорида (ТМБ).

✓ Инкубируют планшет 15-25 мин в темноте при комнатной температуре.

✓ Для прекращения реакции в каждую лунку вносят по 100 мкл стоп-реагента (кислота).

✓ Проводят измерение оптической плотности содержимого лунок планшета при 450 нм на планшетном фотометре.

В случае обнаружения антифаговых IgG-антител в образцах сыворотки крови пациентов проводят реакцию нейтрализации для подтверждения нейтрализующих бактериофаг свойств найденных антител и отбирают фаг или фаги, к которым у пациента отсутствуют IgG-антитела, обладающие подтвержденными нейтрализующими свойствами [35, 46].

3. Постановка реакция нейтрализации.

✓ Сыворотку крови пациента разводят в 1500 раз в стандартном фосфатном буфере (PBS) во избежание неспецифической реакции.

✓ Затем к 450 мкл разведенной сыворотки добавляют 50 мкл фаголизата исследуемого бактериофага в титре 10^6 БОЕ/мл.

✓ Полученную смесь инкубируют в термостате в течение 30 минут при температуре $+37^{\circ}\text{C}$.

✓ После инкубации смесь разводят в 100 раз жидкой питательной средой и титруют по методу Грациа.

✓ Падение титра бактериофага в смеси с сывороткой крови пациента свидетельствует о наличии антител, нейтрализующих фаговую активность.

Определение способов введения бактериофага. Способы введения бактериофага пациенту. Очаг инфекции и способ введения препаратов бактериофагов.

Далее, учитывая локализацию инфекционного процесса и фармакокинетику отобранных фага или фагов, определяют способ введения фагов и соответствующую выбранному способу введения лекарственную форму.

Это обеспечивает максимальную доставку фагов к очагу инфекции и длительное персистирование в нем. При этом, падение титра бактериофагов в очаге инфекции должно составлять не более чем два порядка от исходно содержащегося в препарате, а персистирование фагов в очаге инфекции должно происходить в течение всего периода выделения из него бактерии - мишени и не менее 24-48 часов после ее элиминации.

Выбор способа введения проводится в соответствии с инструкцией по медицинскому применению препаратов бактериофагов.

Бактериофаги назначаются пациентам для приема внутрь, в виде клизм, аппликаций, орошений, введения в полости ран, вагины, матки, носа, пазух носа, а также в дренированные полости: абсцессов, брюшную, плевральную, мочевого пузыря, почечной лоханки.

Дополнительное разведение препарата не допускается. Внутрь препарат принимают натощак за 0,5-1 час до приема пищи. Препарат не следует запивать водой.

Таблица 2.

Рекомендуемые дозировки препаратов бактериофагов для местного использования.

ПЛОЩАДЬ ОЧАГА ПОРАЖЕНИЯ (см²)	ДОЗА НА 1 ПРИЕМ (мл)
< 2	5-10
2-5	10-20
5-10	20-30
10-20	30-60
20 -40	60-120
> 40	120-200

В случае обработки полости гнойного очага химическими антисептиками перед применением бактериофага она должна быть промыта стерильным физиологическим раствором. В ограниченные полости (плевральную, суставную и другие) вводят препарат до 100 мл, после чего оставляют капиллярный дренаж, через который в течение нескольких дней повторно вводят бактериофаг.

Лечение гнойно-воспалительных заболеваний с локализованными поражениями должно проводиться одновременно как местно, так и приемом препарата внутрь в течение 7-20 дней (по клиническим показаниям).

При лечении *гнойных ран* препарат применяют в виде орошения, аппликаций, повязок, введения в дренаж в дозе 5-50 мл в зависимости от очага поражения не менее одного раза в день, курс лечения 10-15 дней.

При *абсцессах*, после вскрытия и удаления гнойного содержимого, препарат вводят в количестве меньшем, чем объем удаленного гноя, ежедневно однократно, курс лечения 7-10 дней.

При *конъюнктивитах и кератоконъюнктивитах* препарат применяют по 2-3 капли 4-5 раз в день, курс лечения 5-7 дней.

При *гнойной язве роговицы* препарат применяют по 4-5 капель в день, курс лечения 7-10 дней.

При *гнойных иридоциклитах* препарат применяют по 6-8 капель каждые 3 часа в сочетании с приемом внутрь в терапевтических дозировках, курс лечения 7-10 дней.

При лечении *отитов* препарат используют для промывания и введения в полость среднего уха по 2-5 мл 1-3 раза в день, курс лечения 7-15 дней.

При лечении *воспалений пазух носа* препарат используют для промывания полости носа, носоглотки и пазух носа в дозе 5-10 мл и введения в пазухи 2-3 мл. Процедуру повторяют ежедневно однократно в течение 7-10 дней. Кроме того, препарат вводят в полость носа в виде турунд, смоченных бактериофагом, по очереди в каждый носовой ход и оставляют в течение 0,5-1 часа. Процедуру повторяют 3 раза в день, курс лечения 7-15 дней.

При лечении *стоматитов и хронических генерализованных пародонитов* препарат используют в виде полосканий полости рта 3-4 раза в день в дозе 10-20 мл, а также введений в пародонтальные карманы турунд, пропитанных бактериофагом, на 5-10 мин, курс лечения 7-10 дней.

При лечении *ангин, фарингитов, ларингитов* препарат используют для полосканий полости рта и глотки 3 раза в день по 10-20 мл, курс лечения 7-10 дней.

При лечении *бронхитов, пневмоний* препарат принимают внутрь 3 раза в день по 10-20 мл, а также применяют в виде аэрозолей и ингаляций (без подогрева и использования ультразвука), курс лечения 15-20 дней.

При *перитонитах и плевритах* препарат вводят в дренированные полости – брюшную и плевральную – через дренажные трубки ежедневно однократно по 20-70 мл, курс лечения 10-15 дней.

При *гастроэнтероколитах, панкреатитах, холециститах, а также дисбактериозах кишечника* препарат принимают внутрь в возрастных дозировках 3 раза в день за 1 час до еды в течение 7-20 дней (по клиническим показаниям). В виде клизм назначают 1 раз в день вместо одного приема через рот. При неукротимой рвоте препарат применяют в виде высоких клизм 2-3 раза в день по 20-40 мл.

При *циститах, пиелонефритах, уретритах* препарат принимают внутрь в терапевтической дозе 3 раза в день за 1 час до еды в течение 10-20

дней. В том случае, если полость мочевого пузыря или почечной лоханки дренированы, препарат вводят через цистостому или нефростому 1-3 раза в день по 20-50 мл в мочевой пузырь и 5-7 мл в почечную лоханку, курс лечения 7-15 дней.

При лечении *гнойно-воспалительных гинекологических заболеваний (нагноений ран, эндометритов, вульвитов, бартолинитов, кольпитов, сальпингоофоритов)* препарат используют для орошений, аппликаций, вводят в полости ран, вагины, матки по 5-20 мл один раз в день. При кольпите применяют в виде орошений или тампонирования 2 раза в день. Тампоны закладывают на 2 часа. Курс лечения 7-10 дней.

При *остеомиелитах* препарат вводят в полость раны через турунды, дренажи в количестве 10-30 мл ежедневно однократно, курс лечения 15-20 дней.

По окончании курса фаготерапии производится бактериологическое исследование и оценка клинического состояния пациента. При не достижении критериев эффективности проводится оценка напряженности антифагового иммунного ответа методом ИФА и реакцией нейтрализации и повторный курс фаготерапии (с коррекцией штаммового состава препарата в случае обнаружения антифаговых антител).

Профилактика внутрибольничных хирургических инфекций.

Препараты бактериофагов используют для обработки послеоперационных и свежееинфицированных ран в дозе 5-50 мл в зависимости от очага поражения ежедневно однократно в течение 5-7 дней.

Критерии эффективности персонализированной фаготерапии.

Различают первичные и вторичные критерии эффективности проводимой фаготерапии.

1. Первичные критерии эффективности

✓ Элиминация бактерий рода *Pseudomonas* и/или *Acinetobacter* и/или *Klebsiella* и/или *Staphylococcus* из инфицированного локуса.

✓ Значительное снижение уровня контаминации (КОЕ/г) бактерий *Pseudomonas aeruginosa* и/или *Acinetobacter baumannii* и/или *Klebsiella pneumoniae* и/или *Staphylococcus aureus* (на 3-4 порядка или до единичного присутствия колониеобразующих единиц возбудителя).

✓ Смена возбудителя.

2. Вторичные критерии эффективности

✓ Положительная динамика состояния пациента по данным клиническо - лабораторных показателей [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ ФАГОТЕРАПИИ В КОМПЛЕКСНОЙ ПРОГРАММЕ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ИСМП В ОТДЕЛЕНИИ РАО № 2 ГKB №67 им.Л.А. ВОРОХОБОВА.

Цель работы. Повышение эффективности профилактических и лечебных мероприятий, направленных на предотвращение циркуляции госпитальных патогенов в отделении реанимации путем использования бактериофагов, активных в отношении полирезистентных штаммов *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, подобранных в соответствии с индивидуализированным алгоритмом, разработанным ФБУН МНИИ-ЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора.

Материалы и методы. Работа выполнена на базе 2-го отделения анестезиологии - реанимации ГБУЗ ГKB № 67 им. Л.А. Ворохобова ДЗМ. Персонифицированный подбор бактериофагов проведен на базе ФБУН МНИИ-ЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора.

В исследование были включены две группы пациентов общей численностью 20 человек, находившихся на продленной искусственной вентиляции легких в РАО №2 ГKB № 67 им. Л.А. Ворохобова ДЗМ в 2018 г.

У пациентов первой группы (10 человек, апрель 2018 г.) была проведена трехкратная санация полости рта путем ее орошения подобранными индивидуально препаратами бактериофагов. Для однократной обработки использовали 20 мл бактериофагового препарата. В таблице 4 представлены данные по локусам, исходно контаминированным *Klebsiella pneumoniae*.

У пациентов второй группы (10 человек, обследован 21 локус, сентябрь 2018 г.) при проведении микробиологического скрининга выявлены грамотрицательные патогены (n=13), в том числе:

- ✓ *Pseudomonas aeruginosa* – из крови у одного пациента, из содержимого трахеобронхиального дерева у 8 пациентов;
- ✓ *Acinetobacter baumannii* – из содержимого трахеобронхиального дерева у одного пациента, из мочи у одного пациента;
- ✓ *Klebsiella pneumoniae* – из мочи у двух пациентов.

Все пациенты второй группы получали бактериофаги по 20 мл на прием через зонд внутрижелудочно в течение пяти дней подряд.

Оценка переносимости бактериофагов, обследование на наличие аллергических реакций, других побочных эффектов в РАО №2 осуществлялось лечащим врачом-реаниматологом.

Комплексная оценка эффективности использования бактериофагов в рамках наблюдения пациентов в РАО №2 осуществлялась по данным микробиологического мониторинга и заключалась в частоте обнаружения грамотрицательных патогенов в биоматериале пациента после проведения курса персонализированной фаготерапии.

Назначение бактериофаговых препаратов проводилось в соответствии с алгоритмом индивидуализированного подбора, проводимого согласно разработанной «дорожной карте»:

- ✓ определение чувствительности бактерии-мишени к бактериофагу (с учетом эффективности фаговой инфекции на штамм-возбудителе, выделенном от конкретного пациента, а не на бактерии-хозяине);
- ✓ определение нейтрализующих IgG-антител к используемому бактериофагу в сыворотке крови пациента с помощью разработанной иммуноферментной тест-системы и реакции нейтрализации;
- ✓ подбор лекарственной формы и способа введения бактериофага на основе проведенных ранее фармакокинетических исследований, а также оптимального для эффективного лизиса бактерии-мишени в очаге инфекции значения *множественности инфицирования*. Последнее рассчитывается как отношение титра фагов, содержащихся в препарате (с учетом потерь на достижение очага инфекции), к количеству бактерии-возбудителя, высеваемой из очага инфекции, и должно быть в интервале 1-100.

Для обоснованного и безопасного обновления штаммовых составов фагов, используемых против возбудителей ИСМП, в МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского был создан банк фeno- и генотипически охарактеризованных бактериофагов (см. стр. 17).

Результаты исследования.

При микробиологическом скрининге первой группы пациентов *Klebsiella pneumoniae* высевалась у всех пациентов из эндотрахеального аспирата. Количество случаев успешной эрадикации *K. pneumoniae* с помощью бактериофагов составило 60,0% (табл. 3).

Таблица 3.

Результаты санации полости рта с помощью бактериофагов у пациентов РАО №2.

Номер пациента	Дата обследования	Локус	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Дата применения бактериофага	Дата повторного обследования	Локус	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
1	07.04.2018	ЭТА	+	14.07.2018	21.04.2017	ЭТА	+
2	06.04.2018	ЭТА	+	14.07.2018	15.04.2017	ЭТА	-
3	07.04.2018	ЭТА	+	14.07.2018	15.04.2017	ЭТА	-
4	30.03.2018	ЭТА	+	14.07.2018	14.04.2017	ЭТА	-
5	02.04.2018	ЭТА	+	14.07.2018	15.04.2017	ЭТА	-
6	09.04.2018	ЭТА	+	14.07.2018	24.04.2017	ЭТА	-
7	08.04.2018	ЭТА	+	14.07.2018	15.04.2017	ЭТА	+
8	06.04.2018	ЭТА	+	14.07.2018	24.04.2017	ЭТА	+
9	03.04.2018	ЭТА	+	14.07.2018	28.04.2017	ЭТА	-
10	25.03.2018	ЭТА	+	14.07.2018	15.04.2017	ЭТА	+

Примечание: «+» – наличие *Klebsiella pneumoniae*;
 «-» – отсутствие *Klebsiella pneumoniae*;
 ЭТА – эндотрахеальный аспират

Таким образом, как видно из данных, приведенных в таблице, санация полости рта привела к элиминации возбудителя и из более глубоких зон – трахеи и, возможно, бронхов.

У всех пациентов РАО №2 из второй группы до начала исследования высевались полирезистентные штаммы грамотрицательных бактерий. Всего обследовали клинический материал из 21 локуса, в 13 (61,9%) из которых выделяли:

- ✓ *Pseudomonas aeruginosa* – в 69,2% случаев (9 из 13 локусов),
- ✓ *Acinetobacter baumannii* – в 15,4 % случаев (2 из 13),
- ✓ *Klebsiella pneumoniae* – в 15,4 % случаев (2 из 13).

В течение пяти дней пациенты получали бактериофаги через зонд.

Ни в одном случае применения бактериофагов не было выявлено токсических и аллергических реакций со стороны пациентов. Патологических изменений биохимических показателей крови в связи с использованием бактериофагов также не наблюдали.

Полная эрадикация патогенов произошла у 6 пациентов из 10, что составило 60% (табл.4).

Были санированы 9 локусов из 13 (69,2%), в которых до начала применения бактериофагов выявляли грамотрицательные госпитальные патогены, в том числе:

- ✓ 5 из 9 локусов, в которых определяли полирезистентные штаммы *Pseudomonas aeruginosa*,
- ✓ 2 из 2 локусов, в которых идентифицировали полирезистентные штаммы *Acinetobacter baumannii*,
- ✓ 2 из 2 локусов, в которых высевались полирезистентные штаммы *Klebsiella pneumoniae*.

Таблица 4.

Результаты санации инфицированных локусов у пациентов РАО №2 с помощью бактериофагов.

Номер пациента	Исследуемый локус	Наличие патогенов	Дата применения бактериофагов	Дата повторного обследования	Локус	Наличие патогенов
1	ЭТА	<i>P. aeruginosa</i>	03.09.18	10.09.18	ЭТА	-
2	ЭТА	<i>P. aeruginosa</i>	05.09.18	12.09.18	ЭТА	-
	Моча	<i>A. baumannii</i>	05.09.18	12.09.18	Моча	-
3	ЭТА	<i>P. aeruginosa</i>	05.09.18	12.09.18	ЭТА	<i>P. aeruginosa</i>
4	ЭТА	<i>P. aeruginosa</i>	10.09.18	17.09.18	ЭТА	-
	Кровь	<i>P. aeruginosa</i>	10.09.18	17.09.18	Кровь	-
5	ЭТА	<i>P. aeruginosa</i>	18.09.18	25.09.18	ЭТА	<i>P. aeruginosa</i>
6	ЭТА	<i>P. aeruginosa</i>	14.09.18	21.09.18	ЭТА	-
	моча	<i>K. pneumoniae</i>	14.09.18	21.09.18	моча	-
7	ЭТА	<i>P. aeruginosa</i>	18.09.18	25.09.18	ЭТА	<i>P. aeruginosa</i>
8	ЭТА	<i>P. aeruginosa</i>	13.09.18	20.09.18	ЭТА	<i>P. aeruginosa</i>
9	ЭТА	<i>A. baumannii</i>	21.09.18	28.09.18	ЭТА	-

10	моча	<i>K. pneumoniae</i>	07.09.18	14.09.18	моча	-
----	------	----------------------	----------	----------	------	---

Примечание: «-» – отсутствие патогена
ЭТА – эндотрахеальный аспират

У второй группы пациентов через сутки после окончания курса персонифицированной фаготерапии были исследованы образцы кала, мочи и ЭТА с целью определения в них штаммов бактериофагов, входящих в препараты.

В клиническом материале, полученном у 7 из 10 пациентов, удалось детектировать ряд штаммов бактериофагов, входящих в препараты. Значительные титры бактериофагов в отдельных локусах коррелировали с уменьшением КОЕ и последующей элиминацией в этих отделах чувствительных к данному фагу полирезистентных штаммов госпитальных патогенов.

При повторном обследовании, проведенном через 72 часа после окончания приема бактериофагов, оригинальные штаммы бактериофагов в клиническом материале пациентов не обнаруживались (чувствительные к данным бактериофагам бактериальные штаммы также отсутствовали).

Выводы.

1. Рациональное профилактическое и лечебное применение бактериофагов в отделении анестезиологии - реанимации у пациентов, находящихся в критическом состоянии, существенно ограничивает циркуляцию полирезистентных штаммов микроорганизмов.
2. Использование персонифицированной фаготерапии на основании индивидуализированного подбора бактериофагов, активных в отношении *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii* дополняет перечень мер, направленных на сдерживание антибиотикорезистентности и профилактику инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, среди наиболее уязвимого контингента пациентов отделения реанимации.
3. Пероральный или зондовый способ введения и, практически, отсутствие побочных эффектов, позволяют безопасно применять бактериофаги у пациентов отделения реанимации, в том числе с инфекционными осложнениями различного генеза.

Маршрутизация.

Всем пациентам с клинической картиной ИСМП, находящимся на стационарном лечении в общесоматических, неврологических или хирургических отделениях в обязательном порядке показана верификация у пациента инфекции/колонизации, связанной с оказанием медицинской помощи; лабораторно подтвержденное наличие в биологическом материале, полученном от пациента, патогенов (таких как *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*); взятие общего анализа крови с определением лейкоцитарной формулы, СОЭ и СРБ.

Повышение эффективности фаготерапии ИСМП, вызванной возбудителями с множественной лекарственной устойчивостью, достигается:

- ✓ персонифицированием подбора штаммового состава бактериофагов;
- ✓ повышением точности определения чувствительности возбудителей к тестируемым штаммам бактериофагов и повышением объективизации наличия антифагового иммунитета у больных;
- ✓ установлением индивидуальных доз вводимого препарата с учетом отношения количества бактериофагов к титру бактериальных возбудителей;
- ✓ выбором оптимальных лекарственных форм и способов их введения путем учета локализации инфекционного очага и фармакокинетики отобранных фага или фагов.

Заключение.

Индивидуализированный (персонифицированный) алгоритм подбора подразумевает подбор штаммового состава бактериофагов с учетом быстрого изменения циркулирующих штаммов-возбудителей и формирования антифагового иммунитета, использование различных лекарственных форм бактериофагов и путей их введения, обеспечивая максимальную доставку фагов к очагу инфекции и длительное персистирование в нем.

Учет антифагового иммунного ответа имеет принципиальное значение для иммунокомпromетированных, длительно находящихся в стационаре больных, которые подвержены частым рецидивам инфекционного процесса.

Подбор оптимального пути введения бактериофагов требует не только выбора адекватной лекарственной формы, но и фармакокинетического подтверждения рациональности использования тех или иных штаммов фагов с учетом их биологических свойств.

Постоянное изменение штаммов - возбудителей ИСМП в ОРИТ влечет за собой необходимость постоянного мониторинга чувствительности используемых бактериофагов и внесения изменений в штаммовый состав фагового коктейля для поддержания необходимого уровня его спектра литической активности. Высокая вероятность проведения повторных курсов фаготерапии у данной категории пациентов заставляет учитывать образование специфических антифаговых антител к уже использованным фагам.

Литература.

1. Алешкин А.В., Анурова М.Н., Киселева И.А., Попова О.А. . Антибактериальная композиция в виде суппозитория и способ ее приготовления. Патент на изобретение RU 2622762. Опубликовано: 19.06.2017. Бюл. № 17.
2. Алёшкин А.В., Афанасьев С.С., Галимзянов Х.М., Несвижский Ю.В., Орлов С.В., Рубальский Е.О., Рубальский О.В., Свистунов А.А., Смирнова К.Н., Чикобава М.Г. Способ получения бактериофага. Патент на изобретение RUS 2603730. Опубликовано 12.08.2015.
3. Алешкин А.В., Бочкарева С.С., Ершова О.Н. и др. Бактериофаги в профилактике инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи: алгоритм подбора и механизм системного действия. // Журнал МедиАль. 2016. № 1 (18). С. 29.
4. Алешкин А.В., Воложанцев Н.В., Веревкин В.В., Красильникова В.М., Мякинина В.П., Попова А.В., Светоч Э.А.. Композиция антибактериальная для профилактики или лечения госпитальных инфекций (варианты), штаммы бактериофагов, используемые для получения такой композиции. Патент на изобретение RUS 2628312 16.03.2015.
5. Алешкин В.А., Новикова Л.И., Бочкарева С.С., Алешкин А.В., Ершова О.Н., Киселева И.А., Зулькарнеев Э.Р. Гуморальный иммунный ответ на бактериофаги в оценке эффективности энтеральной фаготерапии. В книге: Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности Материалы Третьей научно-практической конференции с международным участием. 2016. С. 56-57.
6. Алешкин А.В., Светоч Э.А., Воложанцев Н.В., Киселева И.А., Рубальский Е.О., Ершова О.Н., Новикова Л.И. Инновационные направления использования бактериофагов в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия населения российской федерации// В книге: Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности Материалы Третьей научно-практической конференции с международным участием. 2016. С. 56.
7. Алешкин А.В., Селькова Е.П., Ершова О.Н., Савин И.А., Шкода А.С., Бочкарева С.С., Митрохин С.Д., Киселева И.А., Орлова О.Е., Рубальский Е.О., Зулькарнеев Э.Р. Концепция персонализированной фаготерапии пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии, страдающих инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи. Фундаментальная и клиническая медицина. 2018. Т. 3. № 2. С. 66-74.
8. Афанасьев С.С., Алёшкин В.А., Воропаева Е.А., Караулов А.В., Егорова Е.А., Афанасьев М.С., Алешкин А.В., Рубальский Е.О., Чешева В.В., Воропаев А.Д., Несвижский Ю.В. Способ оценки состояния здоровья человека при прогнозировании течения инфекционного заболевания. . Патент на изобретение RUS 2595863 Опубликовано 23.12.2014.

9. Белоусова Ю.Б., Козлова С.Н. Состояние резистентности к антиинфекционным химиопрепаратам в России. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии под редакцией Л.С. Страчунского – Смоленск: НИИАХ СГМА, 2007.
10. Борисова О.Ю., Рубальский Е.О., Алешкин А.В., Гадуа Н.Т., Ершова О.Н., Курдюмова Н.В., Савин И.А., Киселева И.А., Бочкарева С.С. Применение молекулярно-генетических технологий для индикации фагов в крови пациентов с инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи// В книге: Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности Материалы Третьей научно-практической конференции с международным участием. 2016. С. 60-61.
11. Бочкарева С.С., Алешкин А.В., Ершова О.Н., Новикова Л.И., Афанасьев С.С., Киселева И.А., Зилькарнеев Э.Р., Рубальский Е.О., Борисова О.Ю., Караулов А.В. Иммунологические аспекты фаготерапии инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в отделении нейрореанимации.//Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2017. № 4. С. 42-48.
12. Ворошилова Н.Н., Алферова Э.В., Дарбеева О.С., Майская Л.М., Перепанова Т.С., Лазарева Е.Б., Яцик Г.В., Самсыгина Г.А., Анкирская А.С. Изучение клинической эффективности препарата бактериофага энтеробактер поливалентного очищенного // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2010. № 2 (38). С. 31-33.
13. Гайдуль К.В. Внутрибольничные инфекции. Некоторые аспекты эпидемиологии, диагностики, лечения и профилактики: краткое информационное пособие для практикующих врачей// Научно-информационный центр ООО «АБОЛмед» - 2005.
14. Дроздова О.М., Брусина Е.Б., Цитко А.А., Шестопалов Н.В., Акимкин В.Г., Федорова Л.С., Пантелеева Л.Г., Шестопалова Т.Н., Зуева Л.П., Асланов Б.И., Алешкин А.В., Алешкин А.В., Селькова Е.П. Биологический метод дезинфекции с использованием бактериофагов 3.5.1. Эпидемиология. Дезинфектология. Дезинфекция: методические рекомендации : МР 3.5.1.0101-15 / Москва, 2016.
15. Иммунологические методы / Под ред. Г. Фримеля.- М.: Медицина, 1987. 472 с.
16. Караулов А.В., Афанасьев С.С., Алешкин В.А., Бондаренко Н.Л., Воропаева Е.А., Афанасьев М.С., Несвижский Ю.В., Алешкин А.В., Борисова О.Ю., Овсянникова Е.Г., Рубальский О.В., Пылев А.Л., Бочкарева С.С., Сердюков В.Г., Рубальская Е.Е., Воропаев А.Д., Махмудов Р.С. Механизмы приобретения вирулентности условно-патогенными микроорганизмами и формирования пула нозокомиальных штаммов в микробиоценозах слизистых открытых полостей организма. Астраханский медицинский журнал. 2018.- № 13(2).- С. 17-31. Doi:

- 10.17021/2018.13.2.17.31.
17. Колосовская Е.Н. Диссертация Эпидемиология гнойно-септических инфекций, вызванных бактериями рода ацинетобактер, в стационарах хирургического профиля/ 1990. - 151 с.
 18. Лазарева Е.Б., Меньшиков Д.Д. Бактериофаги - история вопроса и современное состояние фаготерапии //Медицинский алфавит. 2014. Т. 1. № 4. С. 43-48.
 19. Меньшиков Д.Д., Лазарева Е.Б., Дорфман А.Г., Груненко И.В. Возможности использования микробиологических данных при эпидемиологическом анализе внутрибольничных пневмоний//Клиническая лабораторная диагностика. 2000. № 6.
 20. Меньшикова Е.Д., Лазарева Е.Б., Писарницкая В.Л. Микрофлора нижних дыхательных путей у больных отделения //Клиническая анестезиология и реаниматология. 2006. Т. 3. № 2. С. 4.
 21. Панюшин С.К., Кузнецова Г.В., Мантиков М.А. Антибактериальное средство // Патент РФ RU 2480239. 2013.
 22. Покровский В.И., Акимкин В.Г., Брико Н.И., Брусина Е.Б., Зуева Л.П., Ковалишена О.В. и др. Национальная концепция профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, и информационный материал по ее положениям. Нижний Новгород, //Ремедиум-Поволжье. 2012, 84с.
 23. Распоряжение Правительства Российской Федерации от 25 сентября 2017 г. № 2045-р «Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года», 14 с.
 24. Решедько Г.К., Рябкова Е.Л., Кречикова О.И., Сухорукова М.В., Шевченко О.В., Эйдельштейн М.В. и др. Резистентность к антибиотикам грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в ОРИТ многопрофильных стационаров России. //Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2008; 10 (2): 96-112.
 25. Розанова С.М., Руднов В.А., Перевалова Е.Ю. и др. Сравнительный анализ этиологии и антибиотикорезистентности основных возбудителей нозокомиальных инфекций в ОРИТ различного профиля города Екатеринбурга//Клиническая микробиология антимикробной химиотерапии – 2005- № 7(4) - С. 410-418.
 26. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть вторая, Иммунобиологические лекарственные препараты, под ред. А.Н. Миронова, изд-во: Гриф и К, Москва, 2013, - 212 с.
 27. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. - 2-изд., перераб. и доп. - М.: ОАО Издательство Медицина, 2005, - 832 с.
 28. Тапальский Д.В. Препараты бактериофагов и комбинации антибиотиков: in vitro активность в отношении изолятов *Pseudomonas aeruginosa*

- ST235 с экстремальной антибиотикорезистентностью. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2016. Т. 18. №4. С. 242-248.
29. Яковлев С.В. Нозокомиальные инфекции, вызванные полирезистентными грамотрицательными микроорганизмами: как с ними бороться?//Consilium medicum – 2008. – № 10(1) – С. 44-49.
30. Aarestrup FM. 2015 The livestock reservoir for antimicrobial resistance: a personal view on changing patterns of risks, effects of interventions and the way forward. *Phil. Trans. R. Soc. B* 370: 20140085.
<http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2014.0085>.
31. Aleshkin A. V., Ershova O. N., Volozhantsev N. V., Svetoch E. A., Popova A. V., Rubalskii E. O., Borzilov A. I., Aleshkin V. A., Afanas'ev S. S., Karaulov A. V., Galimzyanov K. M., Rubalsky O. V. & Bochkareva S. S. Phagebiotics in treatment and prophylaxis of healthcare-associated infections, *Bacteriophage*. 2016. 6:4, e1251379, DOI:10.1080/21597081.2016.1251379.
32. Aleshkin A, Kühn C, Mashaqi B, Kiseleva I, Bochkareva S, et al. Three cases of ultima ratio bacteriophage therapy in the clinic for cardiothoracic, transplantation and vascular surgery. 1st German Phage Symposium Program and Abstract Book, University of Hohenheim, Stuttgart, P. 92.
33. Aleshkin A., Rubalsky E., Aleshkin V., Afanasiev S., Bochkareva S., Ershova O., Volozhantsev N., Svetoch E., Borzilov A. Phagebiotics in treatment and prophylaxis of healthcare-associated infections
В книге: *Bacteriophages: An Overview and Synthesis of a Re-Emerging Field* 2016. С. 105-122.
34. Aleshkin A., Shkoda A., Bochkareva S., Ershova O., Mitrokhin S., Kiseleva I., Zul'karneev E., Rubal'skiy E., Novikova L. Concept of individualized medicine based on personalized phage therapy for intensive care unit patients suffering from healthcare-associated infections.. Targeting Phage & Antibiotic Resistance Congress 2018, Florence, Italy, May 17-18, 2018, P. 19.
35. *Biology and Application*. E. Kutter, A. Sulakvelidze. Boca Raton, FL, CRC Press. 2005. P. 381–436.
36. Bruttin A. Human volunteers receiving *Escherichia coli* phage T4 orally: a safety test of phage therapy. //Antimicrobial agents and chemotherapy, V.49, n.7, 2005.
37. Dabrowska K. Immunogenicity of proteins forming the T4 phage head surface. //Journal of Virology, V.88, n. 21, 2014.
38. Dąbrowska K., Miernikiewicz P., Piotrowicza A. et al. Immunogenicity studies of proteins forming the t4 phage head surface. *J. Virol.*, 2014: 88(21):12551-12557.
39. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2015.

40. Joshi S., Singh R., Singh S. P. Antibiotic resistance profile of *Escherichia coli* isolates from colibacillosis in and around Pantnagar, India // *Veterinary World*. – 2012. – T. 5. – №. 7. – С. 405-408. DOI: 10.5455/vetworld.2012.405-408.
41. Henry K.A., Murira A., van Houten N. E., Scot J. K. Developing strategies to enhance and focus humoral immune responses using filamentous phage as a model antigen// *Bioengineered Bugs* 2:5, 275-283; September/October 2011.
42. Kim KP1, Cha JD, Jang EH, Klumpp J, Hagens S, Hardt WD, Lee KY, Loessner MJ. PEGylation of bacteriophages increases blood circulation time and reduces T-helper type 1 immuneresponse.// *MicrobBiotechnol*. 2008 May;1(3):247-57. doi: 10.1111/j.1751-7915.2008.00028.x.
43. Lanni Frank, Lanni Yvonne Thery. Antigenic structure of bacteriophage.//May 9, 2016. symposium.cship.org
44. Loyd V. Allen, Jr. Preservatives, Antioxidants and Ph // *SecundemArtem*. Vol.18. N.1. 2014. P.1-8.
45. Majewska Joanna, et.al. Oral application of T4 phage induces weak antibody production in the gut and in the blood. // *Viruses*, 7, 2015.
46. Marzanna Lusiak-Szelachowska, et. al. Phage neutralization by sera of patients receiving phage therapy. // *Viral Immunology*. V. 27, n. 6, 2014.
47. Mark D. Pescovitz, et.al. Effect of rituximab on human in vivo antibody immune responses. // *Journal allergy clinical immunology*. 2011.
48. Menshikov D.D., Evdokimova N.V., Grunenкова I.V., Astafieva R.F., Kurilin B.L., Menshikova E.D., Lazareva E.B., Vasiliev V.A. Dynamics of resistance to antibacterials of the pathogens at emergency medicine hospital // *Антибиотики и химиотерапия*. 2002. Т. 47. № 8. С. 12-15.
49. Peterson LR. Bad bugs, no drugs: no ESCAPE revisited. *Clin Infect Dis*. 2009; 49(6): 992-993.
50. Rubalskii E.O., Aleshkin A.V., Afanasiev S.S., Aleshkin V.A., Galimzyanov Kh.M., Umerova A.R., Rubalsky O.V., Ershova O.N., Rubalskaya E.E., Kiseleva I.A., Bochkareva S.S., Zul'karneev E.R., Akhmineeva A.Kh., Rubalsky M.O., Lunina I.O., Uskov V.V., Karnaukh M.M., Borisova O.Yu., Gadua N.T., Teply A.D. et al. Integrative approach for control of temperate bacteriophages in phage-based products.// *Астраханский медицинский журнал*. 2017. Т. 12. № 3. С. 56-63.
51. Seiffert, S.N., Hilty, M., Perreten, V., and Endimiani, A. Extended-spectrum cephalosporin-resistant gram-negative organisms in livestock: an emerging problem for human health?. *Drug Resist Updat*. 2013; 16 (1-2): 22-45. DOI: 10.1016/j.drug.2012.12.001.
52. Van Belleghem J.D., Dabrowska K., Vanechoutte M., Barr J. J. Bollyky P. L Interactions between Bacteriophage, Bacteria, and the Mammalian Immune System.// *Viruses* 2019, 11, 10; doi:10.3390/v11010010 , www.mdpi.com/journal/viruses.

53. Wernicki A., Nowaczek A., Urban-Chmiel R. Bacteriophage therapy to combat bacterial infections in poultry // *Virology journal*. – 2017. – T. 14. – №. 1. – C. 179. DOI 10.1186/s12985-017-0849-7.
54. Żaczek M., Łusiak-Szelachowska M., Jończyk-Matysiak E., Weber-Dąbrowska B., Międzybrodzki R. Owczarek B., Kopciuch A., Fortuna W., Rogóż P., Górski A. Antibody Production in Response to Staphylococcal MS-1 Phage Cocktail in Patients Undergoing Phage Therapy. // *Front Microbiol*. 2016 Oct 24;7:1681. eCollection 2016.

ДЕПАРТАМЕНТ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГОРОДА МОСКВЫ

**ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ ФАГОТЕРАПИЯ ПАЦИЕНТОВ,
СТРАДАЮЩИХ ИНФЕКЦИЯМИ, СВЯЗАННЫМИ С ОКАЗАНИЕМ
МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ (ИСМП)**

Методические рекомендации № ____

Москва, 20__ г.