

Мышиная модель летального сепсиса, вызываемого *Acinetobacter baumannii*

А.И.Борзилов, О.В.Коробова, Т.И.Комбарова, Е.С.Перескокова, Е.А.Ганина, А.В.Попова

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

В ходе исследований была разработана модель летальной септической инфекции у мышей, вызываемой клинически-ми штаммами *Acinetobacter baumannii* капсульных типов K9 и K27 из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболенск». Внутривентриальное введение мышам линии BALB/c бактериальных культур в дозе 40 ЛД₅₀ с муцином вызывает быстрое развитие сепсиса. В результате у мышей через 1,5 ч происходит генерализация ацинетобактерной инфекции, которая приводит к гибели 100% животных в течение суток. В первые 12 ч после инфицирования у лабораторных животных наблюдаются отклонения от нормы некоторых гематологических и биохимических показателей крови. В печени и лимфоидных органах животных наблюдаются различного рода патологические изменения.

Пригодность разработанных моделей ацинетобактерной инфекции была проверена в экспериментах по ее лечению. Ампициллин/сульбактам и специфичные бактериофаги AM24 и AS12 показали хороший терапевтический эффект. Антибиотик давали животным дважды в сутки в количестве 200/100 мг/кг в течение 5 дней или однократно. Фаги назначали однократно в количестве 10⁹ БОЕ в режимах профилактики, раннего и позднего лечения. Профилактика и раннее лечение обеспечивали 100%-ю выживаемость зараженных животных и полную санацию их организма от бактерий *A. baumannii*. Более поздние фаготерапия и антибиотикотерапия ухудшают прогноз лечения.

Ключевые слова: *Acinetobacter baumannii*, ацинетобактерная инфекция, мышиная модель, сепсис, антибиотикотерапия, фаготерапия

Для цитирования: Борзилов А.И., Коробова О.В., Комбарова Т.И., Перескокова Е.С., Ганина Е.А., Попова А.В. Мышиная модель летального сепсиса, вызываемого *Acinetobacter baumannii*. Бактериология. 2025; 10(3): 8–18. DOI: 10.20953/2500-1027-2025-3-8-18

Mouse model of lethal sepsis caused by *Acinetobacter baumannii*

A.I.Borzhilov, O.V.Korobova, T.I.Kombarova, E.S.Pereskokova, E.A.Ganina, A.V.Popova

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор, Obolensk, Moscow region, Russian Federation

During the research, a model of lethal septic infection in mice was developed, caused by two clinical strains of *Acinetobacter baumannii* capsular types K9 and K27 from the State Collection of Pathogenic Microorganisms "GKPM-Obolensk". Intraperitoneal injection of bacterial cultures into BALB/c mice at a dose of 40 LD₅₀ with mucin causes the rapid development of sepsis. As a result, in mice, after 1.5 hours, generalization of acinetobacter infection occurs, which leads to the death of 100% of the animals within 24 hours after infection. In the first 12 hours after infection, laboratory animals show deviations from the norm in some hematological and biochemical blood parameters. Different pathological changes were observing in the liver and lymphoid organs.

The mouse *Acinetobacter*-associated infection model was validated in experiments on treatment. Ampicillin/sulbactam and the specific lytic bacteriophages AM24 and AS12 provide a good therapeutic effect. The antibiotic was given to the animals daily in the amount of 200/100 mg/kg for 5 days and once. Phages were administered intraperitoneally once in the amount of 10⁹ PFU in the prophylaxis, early and late treatment modes. The prophylaxis and early treatment ensured 100% survival among infected animals and complete clearance of their bodies from *A. baumannii* bacteria. Later phage and antibiotic therapy worsen the treatment prognosis.

Key words: *Acinetobacter baumannii*, acinetobacter infection, mouse model, sepsis, antibiotic therapy, phage therapy

For citation: Borzhilov A.I., Korobova O.V., Kombarova T.I., Pereskokova E.S., Ganina E.A., Popova A.V. Mouse model of lethal sepsis caused by *Acinetobacter baumannii*. Bacteriology. 2025; 10(3): 8–18. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2025-3-8-18

Для корреспонденции:

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

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0147

Статья поступила 24.03.2025, принята к печати 30.09.2025

For correspondence:

Alexander I. Borzhilov, PhD, MD, Leading Researcher of the laboratory of biological tests of the State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Address: 24 "Quarter A" Territory, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, 142279, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0147

The article was received 24.03.2025, accepted for publication 30.09.2025

Род *Acinetobacter* включает в себя грамотрицательные аэробные неферментирующие бактерии, обычно встречающиеся в почве и окружающей среде, которые могут вызывать оппортунистические инфекции у пациентов в отделениях интенсивной терапии и людей с ослабленным иммунитетом [1, 2]. Ацинетобактерии не имеют жгутиков, некоторые штаммы могут продуцировать капсулу, бледно-желтый и светло-серый пигменты [3].

Наиболее распространенным патогеном этого рода является *Acinetobacter baumannii* [1, 2]. Этот вид считается одним из самых серьезных внутрибольничных патогенов в мире [4, 5]. Ацинетобактерии способны к длительному выживанию в неблагоприятных условиях, в т.ч. на предметах, таких как больничные кровати, дверные ручки и медицинское оборудование, что приводит к опосредованной передаче от пациента к пациенту [6]. Этот микроорганизм привлекает все большее внимание как условно-патогенный, вызывающий широкий спектр госпитальных инфекций у людей со сниженным иммунитетом. Он может вызывать опасные для жизни заболевания: пневмонию, эндокардит, менингит, инфекции мочевыводящих путей и ожоговых ран. Заболевания, вызываемые *A. baumannii*, имеют неблагоприятный прогноз с высокой смертностью [7, 8]. Летальность от этой инфекции достигает 54% [3, 9].

Вирулентность *A. baumannii* связывают с наличием капсульного полисахарида К, липида А, аминопептидазы, уреазы и кислой фосфатазы [10–12]. Ацинетобактерии сохраняют свою жизнеспособность внутри макрофагов и в альвеолярных эпителиальных клетках. Установлено, что клинические штаммы ацинетобактерий способны формировать биопленки, способствующие устойчивости к действию антибактериальных препаратов [13–15].

Как правило, *A. baumannii* вызывают клинические формы инфекции у тяжелобольных людей, получающих лучевую, гормональную, цитостатическую терапию, причем наибольшему риску подвергаются пациенты, находящиеся в отделении интенсивной терапии и при длительном пребывании в стационаре [3, 16, 17]. Ацинетобактер является одним из наиболее устойчивых к антибиотикам возбудителей в клинической медицине [18]. Лечение осложняется устойчивостью *A. baumannii* к большому количеству противомикробных препаратов, включая карбапенемы, аминогликозиды, тетрациклины, фторхинолоны и β -лактамы [7, 8]. Он имеет природную устойчивость к цефалоспорином I и II поколений, природным аминопенициллинам, ко-тримоксазолу, фосфомицину, азтреонаму [19]. По некоторым данным, штаммы с множественной лекарственной устойчивостью вызывают до 80% случаев пневмонии [20].

Всемирная организация здравоохранения отнесла *A. baumannii* к числу наиболее значимых патогенов в связи с острой необходимостью разработки новых противомикробных средств [21]. Для лечения инфекции, вызванной *A. baumannii*, наиболее часто используют ампициллин/сульбактам, цефоперазон/сульбактам, имипенем, меропенем и дорипенем [19, 22]. Появление устойчивых к лекарствам бактерий стимулирует исследования противомикробных альтернатив. Бактериофаги и их литические ферменты (лизины) являются наиболее перспективными средствами для борьбы с лекарственно-устойчивыми штаммами *A. baumannii* [23–30].

Исследователи используют различные животные модели инфекции, вызываемой бактериями *A. baumannii*. Для оценки *in vivo* активности антибактериальных препаратов и исследования патогенеза ацинетобактерной инфекции наиболее часто применяют мышиную модель. Для этих целей используют, как правило, инбредных животных. Так, например, на мышах линии C57BL/6 в возрасте 6–8 нед. изучали факторы вирулентности штаммов *A. baumannii*. Авторы моделировали летальный ацинетобактерный сепсис, заражая мышей внутрибрюшинно различными клиническими изолятами. При этом в случае введения ацинетобактерий в раствор муцина вирулентность штаммов повышалась на два порядка и составляла 10^3 – 10^4 КОЕ [31].

Здоровые мыши линий BALB/c и C57BL/6 малочувствительны к ацинетобактерной инфекции. Однако имеются работы, в которых здоровых мышей применяют для изучения патогенеза ацинетобактерной инфекции, вызывая у них летальную и сублетальную септицемию внутрибрюшинной инъекцией культуры клинического изолята *A. baumannii* LAC-4 [32].

Нередко септическую мышиную модель используют для оценки антибактериальной активности лекарственных препаратов. Например, эффективность меропенема в сочетании с сульбактамом исследователи оценивали на мышах BALB/c (5–6 нед.). В этом случае генерализованную инфекцию вызывали внутрибрюшинным введением штамма с множественной лекарственной устойчивостью *A. baumannii* Ab-153 в дозе $2,1 \cdot 10^7$ – $2,6 \cdot 10^7$ КОЕ [33].

Для воспроизведения генерализованной инфекции используют и внутривенное введение авирулентного штамма ATCC 19606 *A. baumannii*. Введение инбредным нокаутным мышам C57BL/6 klotho KO культуры ацинетобактерий в дозе 10^8 КОЕ приводило к гибели 57% животных в течение 7 дней. Важно отметить, что возрастные мыши были более чувствительными к ацинетобактерной инфекции, чем молодые животные [34].

Мышей линии BALB/c также используют для воспроизведения ацинетобактерного сепсиса. Так, например, Altamirano et al. заражали самок мышей BALB/c (6–10 нед.) внутрибрюшинно культурами ацинетобактера в дозе 10^6 КОЕ с 6%-м муцином для изучения поведения фагоустойчивых мутантов *in vivo*. Данная модель сепсиса была не летальной, а использовалась для пассирования культур в организме мышей. Через 8 ч после инфицирования мышей эвтаназировали для выделения культур *A. baumannii* [35].

Самки мышей BALB/c весом 15 г также могут служить моделью для воспроизведения летального сепсиса. Внутрибрюшинное введение им культуры *A. baumannii* AB900 в дозе $5 \cdot 10^6$ КОЕ с 6%-м муцином приводит к гибели 100% поголовья в течение 12 ч. Снижение заражающей дозы в 5 раз сохраняет жизнь подопытным животным по крайней мере до 24 ч. Эту модель исследователи успешно применили в доклинических исследованиях по оценке лечебной эффективности бактериофага ϕ FG02, цефтазидима и их комбинации [36].

Другие авторы также применяли метод внутрибрюшинного заражения мышей C57BL/6 и BALB/c культурами ацинетобактера в сочетании с 5%-м муцином (1:1) для повышения чувствительности мышей к инфекции. Такой подход позво-

лял снизить летальную дозу вирулентных и гипервирулентных штаммов *A. baumannii* в 50–100 раз [37].

Модель системной инфекции успешно используют для оценки эффективности новых вакцин против *A. baumannii*-инфекций. Везикулы внешней мембраны *A. baumannii* в качестве вакцины защищали от гибели мышей BALB/c после заражения летальной дозой штамма ATCC 19606 [38].

В наших исследованиях была разработана модель летального сепсиса у мышей линии BALB/c, пригодная для оценки *in vivo* эффективности антибиотиков и специфических бактериофагов. В качестве возбудителя инфекции использовали наиболее вирулентные для мышей клинические штаммы различных капсульных типов из коллекции «ГКПМ-Оболensk» – *A. baumannii* B05 и *A. baumannii* 1432. Пригодность разработанной модели проверяли в экспериментах по антибиотико- и фаготерапии экспериментального ацинетобактерного сепсиса у мышей линии BALB/c.

Цель: разработка модели ацинетобактерной инфекции, пригодной для оценки *in vivo* лечебной эффективности антибактериальных препаратов.

Материалы и методы

Бактериальные культуры

Клинические штаммы *A. baumannii* B05 (Инв. № В-7705) и *A. baumannii* 1432 (Инв. № В-7134) из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболensk» были использованы для моделирования ацинетобактерной инфекции у мышей. Эти штаммы относятся к капсульным типам K9 и K27 соответственно. Штамм B05 чувствителен к ампициллину/сульбактаму, но устойчив к цефоперазону, цефотаксиму, цефтазидиму, цефепиму, имипенему, меропенему, гентамицину, амикацину, ципрофлоксацину и доксициклину. Штамм 1432 восприимчив к действию ампициллина/сульбактама, имипенема, меропенема, доксициклина и резистентен к цефалоспорином, амикацину, гентамицину и ципрофлоксацину.

Питательные среды, антибиотики, бактериофаги

Оценку чувствительности штаммов ацинетобактера к антибактериальным препаратам проводили на агаре Мюллера-Хинтона (HiMedia, Индия). Плотную питательную среду №1 ГРМ (ФБУН ГНЦПМБ, Россия) использовали для выращивания культур ацинетобактерий.

Для выявления клеток *A. baumannii* гомогенаты внутренних органов мышей и кровь высевали на среду №1 ГРМ с 25 мкг/мл гентамицина (ОАО «Дальхимфарм», Россия).

В экспериментах по лечению использовали ампициллин/сульбактам (ПАО «Красфарма», Россия), а также специфический бактериофаг AM24 (Инв. № Ph-106) [39] из Государственной коллекции «ГКПМ-Оболensk» и бактериофаг AS12 [40] из рабочей коллекции лаборатории молекулярной диагностики и генно-инженерных препаратов ФБУН ГНЦ ПМБ.

Лабораторные животные

Моделирование ацинетобактерной инфекции проводили на мышах линии BALB/c (самцы/самки, 18–20 г), полученных из филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России.

Животных содержали в поликарбонатных клетках (Lab Products Inc., США) в помещениях со стандартными условиями микроклимата. Мыши имели постоянный доступ к воде и корму (ООО «Лабораторкорм»). Животных держали группами не более 6 животных в клетке соответствующего размера. Ветеринарное наблюдение за мышами проводили ежедневно. Умерших в процессе эксперимента животных удаляли из клеток по мере обнаружения.

Заражение лабораторных животных

Бактериальную взвесь для инфицирования животных готовили из ночной агаровой культуры. Выросшие колонии *A. baumannii* B05 и *A. baumannii* 1432 суспендировали в физиологическом растворе (0,85%-й хлорид натрия). Бактериальные взвеси доводили до оптической плотности 3,8 (по МакФарланду), что приблизительно соответствует $1 \cdot 10^9$ КОЕ/мл. Затем делали последовательные разведения суспензий в физиологическом растворе с 2,5%-м муцином до достижения необходимой концентрации клеток. Культуры вводили мышам внутривентрально в объеме 0,5 мл.

Изучение динамики развития ацинетобактерного сепсиса

Динамику развития у мышей сепсиса, вызываемого *A. baumannii* B05 и *A. baumannii* 1432, оценивали по степени специфической бактериальной обсемененности паренхиматозных органов (селезенка, легкое, почки) и уровню бактериемии через 1,5; 3; 6 и 12 ч после внутривентрального заражения. Мышей заражали культурами в дозе 40 ЛД₅₀. Таким образом, заражающая доза штамма B05 составляла $\sim 6 \cdot 10^5$ КОЕ, а штамма 1432 – $3,5 \cdot 10^5$ КОЕ. Для подавления иммунитета культуры вводили в 2,5%-м растворе муцина.

Для выявления функциональных и морфологических изменений внутренних органов в процессе развития генерализованной ацинетобактерной инфекции через 12 ч после инфицирования делали общий и биохимический анализ крови экспериментальных животных. В это же время проводили гистологическое исследование органов мышей (селезенки, легких, печени, регионарных лимфатических узлов и тимуса) для выявления патологических изменений.

Клинический анализ крови

Общий анализ крови проводили на автоматическом гематологическом анализаторе PCE-90Vet (High Technology, США) в соответствии с руководством по использованию прибора. Для сбора крови применяли микропробирки с K2-ЭДТА. Исследовали индивидуальные образцы крови от пяти животных в группе.

Биохимический анализ крови

Уровни аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы, общего белка, глюкозы и креатинина в сыворотках крови мышей определяли на полуавтоматическом биохимическом анализаторе StatFax-3300 (Awareness Technology, США) с использованием реактивов UTS (ООО «Юнимед», Россия). Для анализа брали индивидуальные образцы сывороток крови от 5 животных из экспериментальных и контрольных групп.

Бактериологический анализ органов

Животных эвтаназировали методом декапитации, а затем вскрывали для получения образцов органов. Селезенку, почки и легкие после взвешивания растирали в стерильных фарфоровых ступках с добавлением стерильного кварцевого песка. В гомогенаты добавляли 1 мл стерильного физиологического раствора и перемешивали до получения однородной суспензии. Полученные цельные суспензии высевали на поверхность ГРМ-агара с 25 мкг/мл гентамицина. Посевы инкубировали при температуре 36,5°C в течение 18–24 ч.

Гистологические исследования

Гистологические исследования органов мышей проводили через 12 ч после внутрибрюшинного заражения мышей культурами *A. baumannii* B05 и *A. baumannii* 1432. В качестве контролей использовали интактных мышей линии BALB/c и мышей, которым вводили внутрибрюшинно только раствор муцина (2,5%). Для микроскопического исследования брали селезенку, легкие, печень, регионарные лимфатические узлы и тимус. Полученные образцы помещали во флакон с 50 мл 4%-го раствора параформа. Через 24 ч экспозиции раствор параформа заменяли свежей порцией. Исследованию подвергали гистологические срезы органов, окрашенные гематоксилином и эозином по стандартной методике. Анализ гистологических препаратов проводили с использованием микроскопа Nikon Elipse 80i и программы анализа изображения NIS Elements F4.60.00. Определяли наличие признаков воспалительно-некротических изменений в исследуемых образцах.

Антибиотикотерапия летального ацинетобактерного сепсиса

Мышей инфицировали внутрибрюшинно культурой *A. baumannii* B05 или *A. baumannii* 1432 в дозе 40 ЛД₅₀. Затем животных случайным образом делили на 6 лечебных и одну контрольную группы (по 10 голов) для каждого штамма. Группу №1 лечили подкожно ампициллином/сульбактамом дважды в день в течение 5 дней. Разовая доза антибиотика составляла 200/100 мг/кг подкожно. Терапию начинали через 1,5 ч после заражения (раннее лечение). Животным из группы №2 давали этот же антибиотик однократно через 6 ч после инфицирования (позднее лечение). Мышам из экспериментальных групп №№ 3–5 назначали соответствующий бактериофаг: AM24 в случае штамма B05 и AS12 в случае штамма 1432. Разовая доза бактериофагов – 10⁹ БОЕ внутрибрюшинно. Группе №3 фаг вводили однократно за 1 ч до заражения (режим профилактики), группе № 4 – однократно через 1,5 ч после заражения, в группе №5 – однократно через 6 ч после заражения. Контрольная группа животных (№6) антибактериальных препаратов не получала. За животными наблюдали в течение 14 дней, регистрируя гибель животных и обсемененность клетками *A. baumannii* B05 или *A. baumannii* 1432 в крови и печени мышей у погибших и выживших животных.

Статистические методы

Статистическую обработку результатов проводили с использованием компьютерных программ Microsoft Excel 2010 и Statistica 10.

Результаты

Модель летального ацинетобактерного сепсиса у мышей

Внутрибрюшинное заражение мышей линии BALB/c культурой *A. baumannii* B05 или *A. baumannii* 3412 с муцином в дозе 40 ЛД₅₀ приводит к стремительному развитию сепсиса и 100%-й гибели в течение первых суток.

Бактериологический анализ внутренних органов и крови мышей показал, что после внутрибрюшинного введения культур *A. baumannii* B05 или *A. baumannii* 3412 с муцином в дозе 40 ЛД₅₀ они вызывают быструю генерализацию ацинетобактерной инфекции (табл. 1). Уже через 1,5 ч клетки *A. baumannii* в большом количестве содержались в почках, селезенке и легких всех мышей. У животных выявлялась бактериемия (1,74–2,0 LOG₁₀ КОЕ/мл). Через 12 ч сепсис достигал своего пика. Средняя концентрация клеток ацинетобактера штаммов B05 и 1432 в селезенке, легких и почках возрастала приблизительно на два порядка. Значительно (на 3,5 порядка) увеличивалась концентрация клеток патогена в крови.

Результаты общего анализа крови

Общий анализ крови мышей, зараженных внутрибрюшинно штаммами *A. baumannii* B05 и 1432 показал, что за 12 ч у мышей развиваются лейкоцитопения, лимфоцитопения, моноцитопения и тромбоцитопения (табл. 2). В то же время наблюдается достоверное повышение уровня гемоглобина.

Установлено, что введение мышам только 2,5%-го муцина приводит к достоверному ($p < 0,05$) повышению уровня моноцитов и гранулоцитов в крови по сравнению с интактными животными.

Результаты биохимического анализа крови

Через 12 ч после внутрибрюшинного введения мышам 2,5%-го муцина без бактериальных культур наблюдалось

Таблица 1. Обсемененность селезенки, легких, почек и крови мышей бактериями *A. baumannii* в различные сроки острой ацинетобактерной инфекции

Table 1. Contamination of the spleen, lungs, kidneys and blood of mice with *A. baumannii* bacteria at different stages of acute acinetobacter infection

Время после заражения, ч / Time after infection, h	LOG ₁₀ КОЕ/г (мл) / CFU/g (ml)			
	Селезенка / Spleen	Легкие / Lungs	Почки / Kidneys	Кровь / Blood
<i>A. baumannii</i> B05				
1,5	4,01 ± 0,20	3,98 ± 0,23	3,94 ± 0,25	2,00 ± 0,12
3	5,81 ± 0,16	5,67 ± 0,34	5,66 ± 0,14	3,71 ± 0,25
6	8,11 ± 0,25	7,88 ± 0,26	7,61 ± 0,26	6,01 ± 0,35
12	8,64 ± 0,57	8,71 ± 0,82	8,51 ± 0,42	7,11 ± 0,48
<i>A. baumannii</i> 1432*				
1,5	4,07 ± 0,13	3,53 ± 0,27	3,87 ± 0,12	1,74 ± 0,33
3	5,07 ± 0,56	5,18 ± 0,33	5,01 ± 0,25	3,22 ± 0,64
6	7,16 ± 0,27	7,07 ± 0,14	7,25 ± 0,19	4,13 ± 0,41
12	8,51 ± 0,17	8,76 ± 0,35	8,37 ± 0,09	7,20 ± 0,36
Приведены среднее значение и стандартное отклонение (n = 5). / The mean and standard deviation are given (n = 5).				

Таблица 2. Результаты клинического анализа крови мышей BALB/c после внутрибрюшинного введения 40 ЛД₅₀ *A. baumannii* B05 и 1432 через 12 ч после зараженияTable 2. Results of clinical blood analysis of BALB/c mice after intraperitoneal administration of 40 LD₅₀ *A. baumannii* B05 and 1432 12 hours after infection

Показатель / Indicator	Ед. измер. / Unit of measurement	Интактные мыши / Intact mice	2,5%-й муцин / 2.5% mucin	Штаммы / Strains	
				B05 с 2,5%-м муцином / with 2.5% mucin	1432 с 2,5%-м муцином / with 2.5% mucin
Лейкоциты / Leukocytes	×10 ⁹ /л	5,4 ± 1,5	7,1 ± 2,3	2,2 ± 0,5	2,2 ± 0,7
Лимфоциты / Lymphocytes	×10 ⁹ /л	3,9 ± 1,4	4,5 ± 1,7	1,9 ± 0,6	1,8 ± 0,7
Моноциты / Monocytes	×10 ⁹ /л	0,1 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,0 ± 0,1	0,0 ± 0,0
Гранулоциты / Granulocytes	×10 ⁹ /л	1,4 ± 0,3	2,3 ± 0,7	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1
Лимфоциты / Lymphocytes	%	70,5 ± 7,5	61,8 ± 4,8	81,9 ± 9,3	83,8 ± 6,0
Моноциты / Monocytes	%	3,2 ± 0,6	4,5 ± 0,5	2,2 ± 1,1	2,3 ± 1,0
Гранулоциты / Granulocytes	%	26,3 ± 7,1	33,7 ± 4,4	15,9 ± 8,3	13,8 ± 5,2
Эритроциты / Erythrocytes	×10 ¹² /л	9,68 ± 0,34	9,37 ± 0,91	10,20 ± 0,47	10,03 ± 0,49
Гемоглобин / Hemoglobin	г/л	146 ± 6	140 ± 11	155 ± 9	158 ± 8
Гематокрит / Hematocrit	%	43,5 ± 1,7	42,8 ± 3,8	46,3 ± 2,7	47,1 ± 2,6
Тромбоциты / Thrombocytes	×10 ⁹ /л	690 ± 81	718 ± 79	220 ± 69	422 ± 131
Тромбокрит / Thrombocrit	%	0,299 ± 0,049	0,323 ± 0,044	0,107 ± 0,035	0,189 ± 0,061

Приведено среднее значение и стандартное отклонение (n = 5); жирным шрифтом указаны значения, статистически значимо отличающиеся от контроля; все сравнения проводили по двустороннему t-критерию Стьюдента. / Mean and standard deviation (n = 5) are shown; values in bold are statistically significantly different from control; all comparisons were performed using a two-tailed Student's t-test.

Таблица 3. Результаты биохимического анализа крови мышей BALB/c после внутрибрюшинного введения 40 ЛД₅₀ *A. baumannii* B05 и 1432 через 12 ч после зараженияTable 3. Results of biochemical analysis of blood of BALB/c mice after intraperitoneal administration of 40 LD₅₀ *A. baumannii* B05 and 1432 12 h after infection

Показатель / Indicator	Интактные мыши / Intact mice	2,5%-й муцин / 2.5% mucin	Штаммы / Strains	
			B05 с 2,5%-м муцином / with 2.5% mucin	1432 с 2,5%-м муцином / with 2.5% mucin
Общий белок, г/л / Total protein, g/l	87,0 ± 4,6	75,2 ± 2,0	72,1 ± 1,5	69,2 ± 2,0
Глюкоза, ммоль/л / Glucose, mmol/l	8,1 ± 1,2	5,7 ± 0,7	2,4 ± 1,0	3,1 ± 0,5
Креатинин, мкмоль/л / Creatinine, μmol/l	53,4 ± 5,4	59,1 ± 4,1	66,1 ± 7,1	46,6 ± 6,9
Щелочная фосфатаза, МЕ/л / Alkaline phosphatase, IU/l	420,8 ± 166,0	563,3 ± 93,0	511,8 ± 88,1	485,5 ± 45,1
АЛТ, МЕ/л / ALT, IU/L	54,0 ± 6,2	42,1 ± 2,6	58,4 ± 21,6	37,1 ± 8,4
АСТ, МЕ/л / AST, IU/L	184,6 ± 59,1	191,8 ± 20,4	251,1 ± 94,2	186,1 ± 41,6
ЛДГ, МЕ/л / LDH, IU/L	525,3 ± 91,6	633,8 ± 66,7	940,3 ± 251,6	688,0 ± 115,9

Приведено среднее значение и стандартное отклонение (n = 5); жирным шрифтом указаны значения, статистически значимо отличающиеся от контроля; все сравнения проводили по двустороннему t-критерию Стьюдента. АСТ – аспартатаминотрансфераза, ЛДГ – лактатдегидрогеназа. / Mean and standard deviation (n = 5) are shown; values in bold are statistically significantly different from control; all comparisons were performed using a two-tailed Student's t-test.

снижение в сыворотках крови количества общего белка ($p < 0,003$), глюкозы ($p < 0,009$) и АЛТ ($p < 0,01$) (табл. 3).

После заражения мышей культурами *A. baumannii* B05 и 1432 с муцином отмечается более выраженное снижение концентрации в крови общего белка и глюкозы. В случае штамма 1432 значительно понижается уровень креатинина и АЛТ.

Выявленные у инфицированных животных отклонения от нормы биохимических показателей крови говорят о наличии у них нарушений функции печени, поджелудочной железы и почек. Эти функциональные изменения органов являются следствием быстро развившегося ацинетобактерного сепсиса.

Данные гистологических исследований

Через 12 ч после внутрибрюшинного заражения мышей штаммом *A. baumannii* B05 или *A. baumannii* 1432 с муцином

было проведено гистологическое исследование внутренних органов мышей (селезенка, легкие, печень, регионарные лимфатические узлы и тимус) с целью выявления патологических изменений.

Печень. Микроскопическое исследование образцов печени мышей, инфицированных внутрибрюшинно *A. baumannii* B05, показало некоторые отклонения от нормы. В просветах некоторых венозных сосудов имелось множество нейтрофилов, а также тромбы, которые состоят из гомогенного эозинотропно окрашенного вещества рыхлой консистенции и краевой базофильно окрашенной части, состоящей из нейтрофилов (рис. 1А).

В случае штамма *A. baumannii* 1432 также выявляются отклонения от нормы в печени мышей, выражающиеся в формировании в просветах сосудов плотных клеточных скоплений, состоящих в основном из лейкоцитов. Среди лейко-

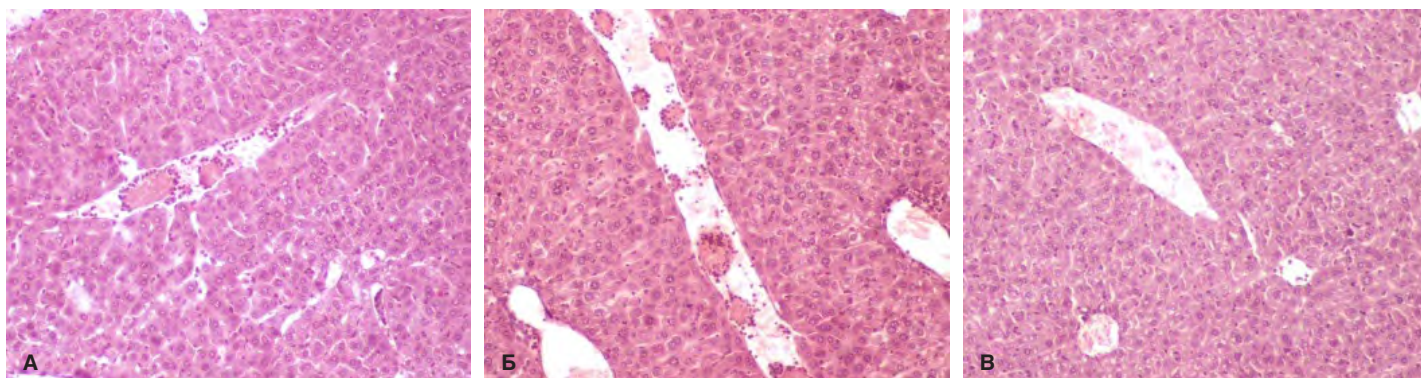


Рис. 1. Микрофотографии срезов печени мышей BALB/c, инфицированных внутрибрюшинно культурой *A. baumannii* в дозе 40 ЛД₅₀, 12 ч после заражения: А – *A. baumannii* B05 с 2,5%-м муцином: тромбы в сосудистой системе печени; Б – *A. baumannii* 1432 с 2,5%-м муцином: на продольном срезе венозного сосуда видны многочисленные тромбы; В – 2,5%-й муцин: патология отсутствует. На поперечных и продольных срезах кровеносных сосудов видно, что в сосудах находится некоторое количество эритроцитов и единичные лейкоциты. В печеночных капиллярах встречаются единичные клетки крови. Увеличение $\times 10$.

Fig. 1. Micrographs of liver sections from BALB/c mice infected intraperitoneally with *A. baumannii* culture at a dose of 40 LD₅₀, 12 hours after infection: A – *A. baumannii* B05 with 2.5% mucin: thrombi in the vascular system of the liver; B – *A. baumannii* 1432 with 2.5% mucin: numerous thrombi are visible on the longitudinal section of the venous vessel; C – 2.5% mucin: pathology is absent. Transverse and longitudinal sections of blood vessels show that there are a certain number of erythrocytes and single leukocytes in the vessels. Single blood cells are found in the liver capillaries. Magnification $\times 10$.

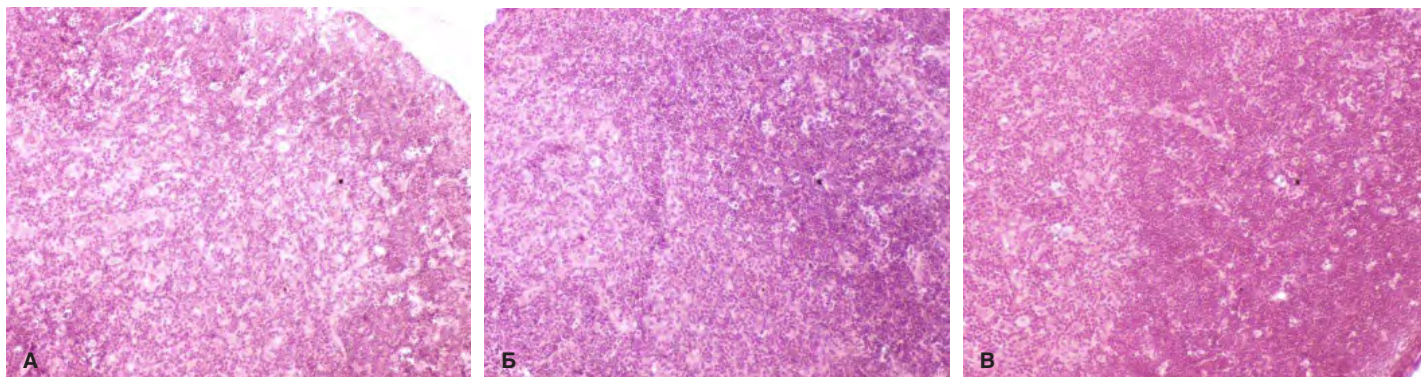


Рис. 2. Микрофотографии срезов тимуса мышей BALB/c, инфицированных внутрибрюшинно культурой *A. baumannii* в дозе 40 ЛД₅₀, 12 ч после заражения: А – *A. baumannii* B05 с 2,5%-м муцином: уменьшение толщины коркового слоя и его плотности. В мозговом веществе имеются участки апоптоза; Б – *A. baumannii* 1432 с 2,5%-м муцином: корковый слой истончен, множество участков апоптоза клеток; В – 2,5%-м муцин: патология отсутствует. Увеличение $\times 10$.

Fig. 2. Micrographs of thymus sections from BALB/c mice infected intraperitoneally with *A. baumannii* culture at a dose of 40 LD₅₀, 12 hours after infection: A – *A. baumannii* B05 with 2.5% mucin: decrease in the thickness of the cortex and its density. There are areas of apoptosis in the medulla; B – *A. baumannii* 1432 with 2.5% mucin: the cortex is thinned, there are many areas of cell apoptosis; C – 2.5% mucin: pathology is absent. Magnification $\times 10$.

цитов преобладают нейтрофилы, в меньшем количестве имеются моноциты и лимфоциты. Кроме того, в венах печени встречаются тромбы. Тромбы состоят из лейкоцитов и компонентов крови, образующих рыхлую волокнистую массу (рис. 1Б).

У контрольных мышей, получавших только муцин, патологических изменений в печени не выявлено. Клетки паренхимы имеют нормальное строение и окраску (рис. 1В).

Тимус. Через 12 ч после введения мышам BALB/c культуры *A. baumannii* B05 с 2,5%-м муцином в корковом и мозговом веществе тимуса резко уменьшалось количество лимфоцитов. Кортикальное вещество занимало узкую полосу по краю долек, выглядело рыхлым и в отдельных участках приближалось по плотности клеток к мозговому веществу. В зоне коркового вещества находилось множество очажков из апоптозных тел, образовавшихся в результате массовой гибели клеток (рис. 2А).

Гистологическое исследование тимуса у мышей, которых заражали штаммом *A. baumannii* 1432, показало, что количе-

ство лимфоцитов в тимусе уменьшено по сравнению с тимусом контрольных мышей, получивших только муцин. Преимущественно это затрагивает корковое вещество. Ширина коркового вещества в дольках тимуса сужается. Кроме того, происходит гибель множества клеток путем апоптоза. Наличие скоплений апоптозных тел отмечается по всей площади коркового вещества (рис. 2Б).

У контрольных мышей патологических изменений в тимусе не выявлено. Во всех его дольках сохраняется широкая полоса коркового вещества из плотно расположенных лимфоцитов. В центральной части долек, в мозговом веществе лимфоцитов меньше, что соответствует норме (рис. 2В).

Селезенка. Гистологическое исследование селезенки мышей, проведенное через 12 ч после заражения *A. baumannii* B05, показало, что белая пульпа состоит из отдельных лимфатических фолликулов разной величины. Фолликулы резко ограничены от красной пульпы. Центры размножения не выявлены. В красной пульпе имеется множество участков с малым количеством клеток и хорошо

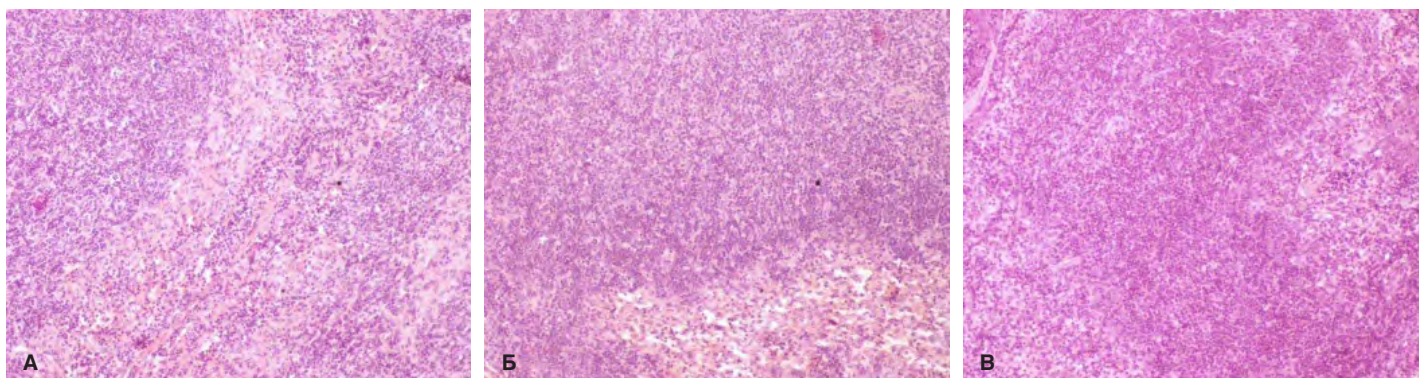


Рис. 3. Микрофотографии срезов селезенки мышей BALB/c, инфицированных внутрибрюшинно культурой *A. baumannii* в дозе 40 ЛД₅₀, 12 ч после заражения: А – *A. baumannii* B05 с 2,5%-м муцином: в белой пульпе отсутствуют центры размножения лимфоцитов. В красной пульпе имеется множество участков с малым количеством клеток; Б – *A. baumannii* 1432 с 2,5%-м муцином: на срезе преобладает белая пульпа, в которой имеется большое количество лимфоцитов. В красной – концентрация лимфоцитов снижена; В – 2,5%-й муцин: отклонений от нормы нет. Увеличение $\times 10$.

Fig. 3. Micrographs of spleen sections from BALB/c mice infected intraperitoneally with *A. baumannii* culture at a dose of 40 LD₅₀, 12 hours after infection: A – *A. baumannii* B05 with 2.5% mucin: there are no lymphocyte proliferation centers in the white pulp. There are many areas with a small number of cells in the red pulp; B – *A. baumannii* 1432 with 2.5% mucin: the section is dominated by white pulp, which contains a large number of lymphocytes. In the red pulp, the concentration of lymphocytes is reduced; B – 2.5% mucin: no deviations from the norm. Magnification $\times 10$.

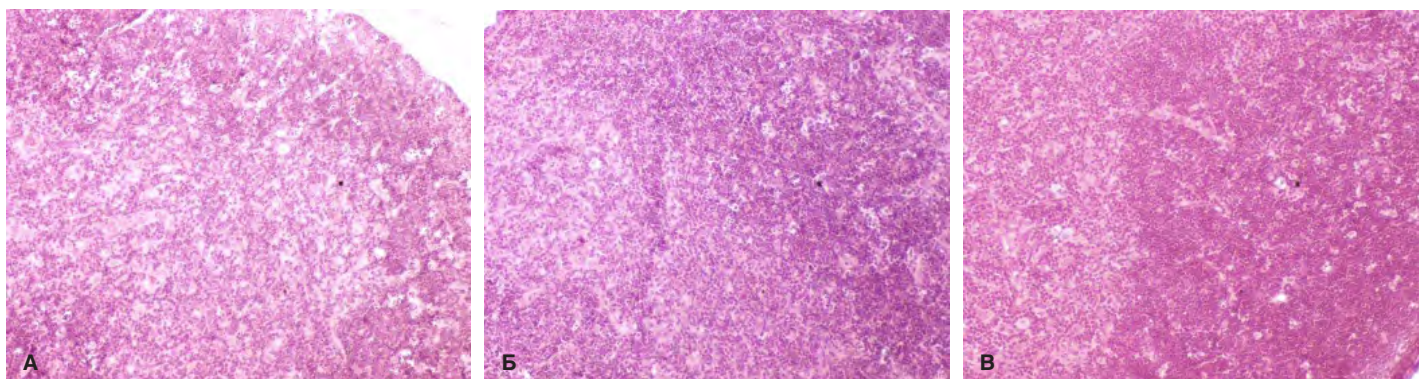


Рис. 4. Микрофотографии срезов лимфатического узла мышей BALB/c, инфицированных внутрибрюшинно культурой *A. baumannii* в дозе 40 ЛД₅₀, 12 ч после заражения: А – *A. baumannii* B05 с 2,5%-м муцином: отсутствуют центры размножения лимфоцитов. В корковом и мозговом веществе снижено количество клеток; Б – *A. baumannii* 1432 с 2,5%-м муцином: корковое вещество содержит большое количество лимфоцитов и центров их размножения; В – 2,5%-й муцин: отклонений от нормы нет. Увеличение $\times 10$.

Fig. 4. Micrographs of lymph node sections from BALB/c mice infected intraperitoneally with *A. baumannii* culture at a dose of 40 LD₅₀, 12 hours after infection: A – *A. baumannii* B05 with 2.5% mucin: no lymphocyte proliferation centers. The number of cells is reduced in the cortex and medulla; B – *A. baumannii* 1432 with 2.5% mucin: the cortex contains a large number of lymphocytes and their proliferation centers; C – 2.5% mucin: no deviations from the norm. Magnification $\times 10$.

видимой стромой. Также есть участки с лимфоцитами, которые располагаются неравномерно, рыхлыми скоплениями, и очаговые скопления нейтрофилов, в т.ч. разрушенных (рис. 3А).

В случае штамма 1432 основная площадь среза селезенки представлена белой пульпой. Обширные участки селезенки заполнены множеством лимфоцитов, среди которых имеются небольшой величины центры размножения. В красной пульпе находится небольшое количество лимфоцитов, а также преимущественно разрушенных нейтрофилов (рис. 3Б).

Белая пульпа селезенки мышей, получавших только муцин, занимает большую площадь в селезенке. Крупные лимфатические фолликулы сливаются, образуя обширные поля из плотного скопления лимфоцитов и центров размножения лимфоцитов. В красной пульпе находится множество лимфоцитов (рис. 3В). Микроскопическая картина соответствует норме.

Лимфатический узел. Анализ гистологических срезов лимфатических узлов мышей, зараженных *A. baumannii* B05,

выявил уменьшение количества лимфоцитов в корковом и мозговом веществе по сравнению с лимфатическими узлами мышей, получивших муцин. По краю лимфатического узла сохраняется узкая плотная полоса из лимфоцитов. Центры размножения не обнаружены. Остальная площадь лимфатического узла представлена рыхло расположенными небольшими скоплениями лимфоцитов, между которыми видна строма с единичными лимфоцитами (рис. 4А).

Патологические изменения в лимфоузлах животных, инфицированных штаммом 1432, носят иной характер. Кортиковое вещество лимфатического узла занимает широкую зону по его краю. В нем содержится большое количество плотно расположенных лимфоцитов, среди которых расположены небольшие центры размножения. Синусы коркового и мозгового вещества расширены и плотно заполнены лимфоцитами. Это указывает на увеличение количества лимфоцитов, проходящих через лимфатический узел (рис. 4Б).

Под воздействием муцина лимфатический узел равномерно заполняется лимфоцитами. В корковом веществе

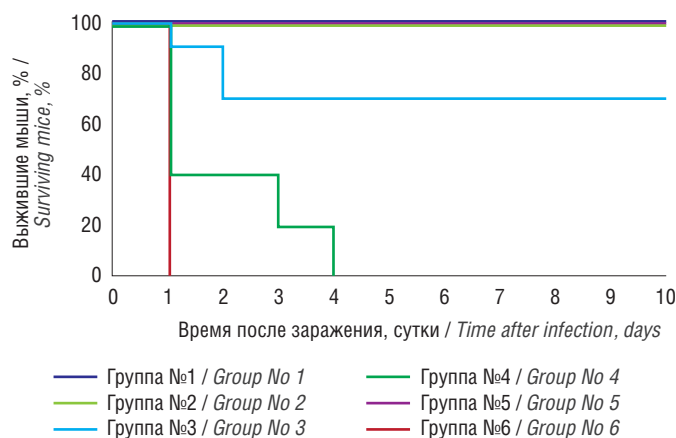


Рис. 5. Выживаемость мышей BALB/c в результате профилактики и лечения летального сепсиса, вызываемого внутрибрюшинным заражением штаммом *A. baumannii* B05 (см. Материалы и методы).
 Fig. 5. Survival of BALB/c mice as a result of prevention and treatment of lethal sepsis caused by intraperitoneal challenge with strain *A. baumannii* B05 (see Materials and Methods).

лимфатического узла отмечается наличие крупных центров размножения (рис. 4B).

На срезах легких и почек инфицированных и контрольных мышей патоморфологических изменений не выявлено.

Антибиотикотерапия экспериментального ацинетобактерного сепсиса

Результаты экспериментального лечения летальной ацинетобактерной инфекции, вызванной штаммом B05, показали эффективность ампициллина/сульбактама при пятидневном курсе лечения (рис. 5). Выживаемость среди животных составила 100%. Однократное введение антибиотика через 6 ч после инфицирования оказалось неэффективным: все животные умерли к 4-м суткам инфекции, причем 6 из 10 животных погибли через сутки после заражения.

Бактериофаг AM24 также проявил высокую антибактериальную активность *in vivo* в отношении *A. baumannii* B05. В режиме профилактики он защищал от гибели всех подопытных животных (рис. 5). Однократная инъекция фагового препарата при раннем и позднем начале лечения обеспечивала выживаемость 100 и 70% инфицированных мышей соответственно. Бактериологический анализ крови и печени выживших в течение 10 дней мышей показал, что все животные были санированы от бактерий *A. baumannii* B05.

Ампициллин/сульбактам дал хороший лечебный эффект только при курсовом применения у мышей, инфицированных штаммом *A. baumannii* 3412 (рис. 6). Выживаемость среди животных составила 100%. Однократное введение антибиотика через 6 ч после заражения защищало от гибели только 20% мышей. Смерть животных наступала в период с 2-х по 3-и сутки после заражения.

Фаготерапия приводила к более выраженному терапевтическому эффекту по сравнению с антибиотикотерапией. Одной инъекции бактериофага AS12 в дозе 10^9 БОЕ оказалось достаточно, чтобы все животные полностью излечились от ацинетобактерной инфекции, причем этот эффект был характерен при использовании фага в режиме профилактики, экстренного лечения и позднего лечения. Положи-

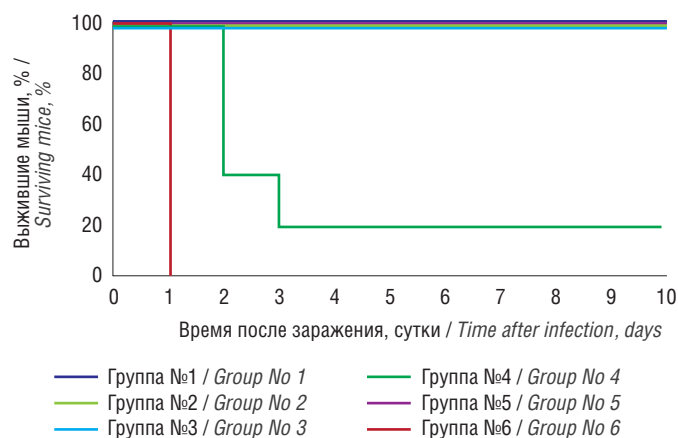


Рис. 6. Выживаемость мышей BALB/c в результате профилактики и лечения летального сепсиса, вызываемого внутрибрюшинным заражением штаммом *A. baumannii* 1432.
 Fig. 6. Survival of BALB/c mice following prophylaxis and treatment of lethal sepsis caused by intraperitoneal challenge with *A. baumannii* strain 1432.

тельные результаты фаготерапии и антибиотикотерапии особенно выделяются на фоне гибели в 1-е сутки 100% мышей из контрольной группы, не получавшей антибактериальных препаратов.

Обсуждение

Доклинические исследования различных антибактериальных препаратов предполагают проведение экспериментов по определению их лечебной эффективности на животных моделях. Наиболее удобной и показательной моделью является летальная инфекция. В своей работе мы представили экспериментальные данные, описывающие две модели ацинетобактерного сепсиса у мышей, вызываемого клиническими штаммами капсульных типов K9 и K27 – *A. baumannii* B05 и *A. baumannii* 3412 соответственно. В качестве животной модели инфекции были выбраны мыши линии BALB/c, которые наиболее часто используются для подобных целей [35–38].

Среди изученных нами культур *A. baumannii* из государственной коллекции «ГКПМ_Оболенск» штаммы B05 и 3412 обладали наибольшей вирулентностью. Тем не менее здоровые мыши различных линий достаточно устойчивы к ацинетобактерной инфекции. По нашим данным, среднелетальная доза (LD_{50}) штамма B05 при внутрибрюшинном введении иммунокомпетентным мышам BALB/c составляет $2,7 \cdot 10^7$ КОЕ, а штамма 1432 – $5,1 \cdot 10^7$ КОЕ. Поэтому для повышения чувствительности подопытных животных к ацинетобактерной инфекции взвеси тест-штаммов вводили в 2,5%-м растворе муцина. В результате показатели LD_{50} *A. baumannii* B05 понижалась до $1,5 \cdot 10^4$ КОЕ, а *A. baumannii* 1432 – до $8,5 \cdot 10^3$ КОЕ. Известно, что муцин обладает способностью снижать количество перитонеальных макрофагов и лимфоцитов, подавлять функциональную активность макрофагов, вызывать воспалительные клеточные и цитокиновые реакции, что способствует развитию инфекции у модельных животных [37, 41]. В литературе имеются сведения о повышении вирулентности штаммов ацинетобактера на два порядка под влиянием муцина [37].

Летальную ацинетобактерную инфекцию моделировали на мышах линии BALB/c, которых заражали внутрибрюшинно тест-штаммами в дозе 40 ЛД₅₀ с муцином. Уже через 1,5 ч после инфицирования клетки *A. baumannii* проникали в селезенку, почки и легкие всех мышей. У животных развивалась выраженная бактериемия. Через 12 ч уровень обсемененности внутренних органов клетками ацинетобактера возрастал на 4–5 порядков. В крови достоверно уменьшалось количество лимфоцитов, моноцитов, гранулоцитов и тромбоцитов. Результаты биохимического анализа крови свидетельствовали о нарушении функции печени и почек, что выражалось в снижении уровня белка, глюкозы, АЛТ и креатина. Гистологические исследования показали, что у мышей с ацинетобактерным сепсисом развиваются схожие для обоих тест-штаммов патологические изменения. В кровеносных сосудах печени образуются множественные тромбы. В тимусе, центральном органе иммунной системы, наблюдается апоптоз Т-лимфоцитов. В селезенке происходит накопление и массовая гибель нейтрофилов. В периферических органах иммунной системы мышей отмечены изменения, указывающие на некоторые различия в воздействии штаммов *A. baumannii* 1432 и *A. baumannii* B05. В первом случае в лимфатических фолликулах селезенки и лимфатических узлов выявляются активные центры размножения лимфоцитов, а для штамма B05 характерно исчезновение центров их размножения.

Разработанная нами летальная модель ацинетобактерного сепсиса была апробирована в экспериментах по антибиотико- и фаготерапии инфекции у мышей. В качестве этиотропных препаратов для лечения мы использовали высокоактивный против обоих тест-штаммов ампициллин/сульбактам и специфические бактериофаги AM24 и AS12. Доза антибиотика была эквивалентной человеческой и рассчитана с учетом соответствующего коэффициента [42]. Разовая доза фагов составила 10⁹ БОЕ. Наш опыт показывает, что внутрибрюшинное введение бактериофагов в дозе 10⁸–10⁹ БОЕ/мышь дает выраженный положительный эффект при лечении экспериментального сепсиса различной этиологии [43–48].

Результативность терапии ацинетобактерного сепсиса оценивали по выживаемости животных и санации их организма от бактерий *A. baumannii* B05 или *A. baumannii* 3412. В результате фаготерапия оказалась более эффективной, чем антибиотикотерапия. Ампициллин/сульбактам и фаги, вводимые через 1,5 ч после заражения, обеспечивали 100%-ю выживаемость и санацию мышей от клеток ацинетобактера. Но антибиотик вводили в течение 5 дней, а фаги – однократно. AM24 и AS12 давали абсолютный лечебный результат при однократном применении как при раннем начале лечения, так и при профилактике ацинетобактерного сепсиса. Однократное назначение антибиотика через 6 ч после инфицирования оказалось неэффективным по сравнению с фагами. В случае штамма *A. baumannii* B05 от инфекции погибло 100% мышей, а в случае штамма 1432 – 80%. Фаг AM24 в режиме позднего лечения защищал от гибели только 70% мышей. В это время уровень колонизации печени, легких, почек и крови животных клетками ацинетобактера был приблизительно на 4 порядка выше, чем через 1,5 ч после заражения. О меньшей терапевтической эффективности фаготерапии при более позднем ее начале сообщает и Jiun-Ling Wang [49]. По его данным, у мышей BALB/c с летальным ацинетобактерным сепсисом, получавших фаг фкм18р с задержкой в 1 ч, выживаемость снизилась примерно до 50% по сравнению с одновременным внутрибрюшинным введением культуры и фага (100%-я выживаемость). В случае летального сепсиса, вызванного штаммом 1432, все схемы профилактики и лечения фагом AS12 дали абсолютный лечебный эффект – 100% вылеченных животных.

Таким образом, разработанные нами модели ацинетобактерной инфекции продемонстрировали их пригодность для оценки лечебной эффективности различных антибактериальных препаратов. Модель летального сепсиса, обусловленного *A. baumannii* B05, мы успешно применили в своей работе по изучению активности специфичного для K9 вирулентного фага AM24 и кодируемой фагом деполимеразы DepAPK09 [50].

Другие авторы также использовали септическую модель ацинетобактерной инфекции для оценки эффективности специфичных бактериофагов и антибиотиков [36, 49, 51, 52]. Altamirano, например, показал, что бактериофаг ØFG02 достоверно снижает нагрузку на органы мышей *A. baumannii* AB900 при внутрибрюшинном введении [36]. При этом у клеток ацинетобактера возникает устойчивость к фагу, связанная с утратой капсулы. Благодаря этому возбудитель становился чувствительным к цефтазидиму. В других исследованиях бактериофаг PD6A3 и эндолизин Ply6A3 защищали от летальной септической инфекции мышей, инфицированных внутрибрюшинно минимальной летальной дозой (1·10⁹ КОЕ) *A. baumannii* 32. Выживаемость животных после однократного введения PD6A3 (10⁹ БОЕ) и Ply6A3 (2 мг) через 1 ч после заражения составила 60 и 70% соответственно [43].

Заключение

Разработанные модели ацинетобактерной инфекции позволяют оценивать профилактическую и лечебную активность антибактериальных препаратов. Эффективность экспериментальной фаготерапии и антибиотикотерапии может достигать 100% в зависимости от схемы применения.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Funding information

The work was carried out within the framework of the industry program of Rosпотребнадзор.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests.

Литература / References

1. Rebic V, Masic N, Teskeredzic S, Aljicevic M. The importance of *Acinetobacter* species in the hospital environment. Med Arch. 2018;72(5):330-334. DOI: 10.5455/medarch.2018.72.330-334

2. Fernando DM, Khan IU, Patidar R, Lapen DR. Isolation and characterization of *Acinetobacter baumannii* recovered from campylobacter selective medium. *Front Microbiol.* 2016;7:1871. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01871
3. Visca P, Seifert H, Towner KJ, Visca P. *Acinetobacter* infection – an emerging threat to human health. *IUBMB Life.* 2011 Dec;63(12):1048-54. DOI: 10.1002/iub.534
4. Almasaudi SB. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology and resistance feature. *Saudi J Biol Sci.* 2018;25:586-596. DOI: 10.1016/j.sjbs.2016.02.009
5. Ayobami O, Willrich N, Harder T, Okeke IN. The incidence and prevalence of hospital-acquired (carbapenem-resistant) *Acinetobacter baumannii* in Europe, Eastern Mediterranean and Africa: a systematic review and meta-analysis. *Emerg Microbes Infect.* 2019;8(1):1747-1759. DOI: 10.1080/22221751.2019.1698273
6. van den Broek PJ, Arends J, Bernards AT, De Brauwier E, Mascini EM, van der Reijden TJ, et al. Epidemiology of multiple *Acinetobacter* outbreaks in The Netherlands during the period 1999–2001. *Clin Microbiol Infect.* 2006 Sep;12(9):837-43. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2006.01510.x
7. Matsuzaki S, Rashel M, Uchiyama J, Sakurai S, Ujihara T, Kuroda M, et al. Bacteriophage therapy: a revitalized therapy against bacterial infectious diseases. *J Infect Chemother.* 2005 Oct;11(5):211-9. DOI: 10.1007/s10156-005-0408-9
8. Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007 Oct;51(10):3471-84. DOI: 10.1128/AAC.01464-06
9. Gaynes R, Edwards JR; National Nosocomial Infections Surveillance System. Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. *Clin Infect Dis.* 2005 Sep 15;41(6):848-54. DOI: 10.1086/432803
10. Bergogne-Berezin E, Friedman H, Bendinelli M. *Acinetobacter*: Biology and Pathogenesis. New York: Springer, 2008.
11. King LB, Pangburn MK, McDaniel LS. Serine protease PKF of *Acinetobacter baumannii* results in serum resistance and suppression of biofilm formation. *J Infect Dis.* 2013 Apr;207(7):1128-34. DOI: 10.1093/infdis/jis939
12. Russo TA, Luke NR, Beanan JM, Olson R, Sauberman SL, MacDonald U, et al. The K1 capsular polysaccharide of *Acinetobacter baumannii* strain 307-0294 is a major virulence factor. *Infect Immun.* 2010 Sep;78(9):3993-4000. DOI: 10.1128/IAI.00366-10
13. Choi CH, Lee JS, Lee YC, Park TI, Lee JC. *Acinetobacter baumannii* invades epithelial cells and outer membrane protein A mediates interactions with epithelial cells. *BMC Microbiol.* 2008 Dec 10;8:216. DOI: 10.1186/1471-2180-8-216
14. Qiu H, KuoLee R, Harris G, Van Rooijen N, Patel GB, Chen W. Role of macrophages in early host resistance to respiratory *Acinetobacter baumannii* infection. *PLoS One.* 2012;7(6):e40019. DOI: 10.1371/journal.pone.0040019
15. Rodríguez-Baño J, Martí S, Soto S, Fernández-Cuenca F, Cisneros JM, Pachón J, et al. Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*: associated features and clinical implications. *Clin Microbiol Infect.* 2008 Mar;14(3):276-8. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2007.01916.x
16. Morris FC, Dexter C, Kostoulas X, Uddin MI, Peleg AY. The Mechanisms of Disease Caused by *Acinetobacter baumannii*. *Front Microbiol.* 2019 Jul 17;10:1601. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01601
17. Rodríguez-Villodres Á, Martín-Gandul C, Peñalva G, Guisado-Gil AB, Crespo-Rivas JC, Pachón-Ibáñez ME, et al. Prevalence and Risk Factors for Multidrug-Resistant Organisms Colonization in Long-Term Care Facilities Around the World: A Review. *Antibiotics (Basel).* 2021 Jun 7;10(6):680. DOI: 10.3390/antibiotics10060680
18. Alsan M, Klompas M. *Acinetobacter baumannii*: An Emerging and Important Pathogen. *J Clin Outcomes Manag.* 2010 Aug;17(8):363-369.
19. МР № 016-0311. Принципы диагностики и лечения *A. baumannii*-ассоциированных инфекций: инструкция по применению: утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь 8 апреля 2011 г. Минск, 2011;5. / МР № 016-0311. Printsipy diagnostiki i lecheniya *A. baumannii*-assotsirovannykh infektsii: instruktsiya po primeneniyu: utverzhdena Ministerstvom zdoravookhraneniya Respubliki Belarus' 8 aprelya 2011 g. Minsk, 2011;5. (In Russian).
20. Mohd Sazly Lim S, Zainal Abidin A, Liew SM, Roberts JA, Sime FB. The global prevalence of multidrug-resistance among *Acinetobacter baumannii* causing hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia and its associated mortality: A systematic review and meta-analysis. *J Infect.* 2019 Dec;79(6):593-600. DOI: 10.1016/j.jinf.2019.09.012
21. Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A. WHO Pathogens Priority List Working Group. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect Dis.* 2018 Mar;18(3):318-327. DOI: 10.1016/S1473-3099(17)30753-3
22. Дмитриева НД, Григорьевская ЗВ, Дьякова СЯ, Ключникова ИА, Петухова ИН. Разработка стратегических подходов терапии инфекций, вызванных мультирезистентными *Acinetobacter baumannii*. *Сибирский онкологический журнал.* 2012;4(52):11-19. / Dmitrieva NV, Grigoryevskaya ZV, Dyakova SA, Klyuchnikova IA, Petuchova IN. Development of strategic approaches to therapy of infections caused by multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *Siberian Journal of Oncology.* 2012;4(52):11-19. (In Russian).
23. Fischetti VA. Bacteriophage lysins as effective antibacterials. *Curr Opin Microbiol.* 2008 Oct;11(5):393-400. DOI: 10.1016/j.mib.2008.09.012
24. Lood R, Winer BY, Pelzek AJ, Diez-Martinez R, Thandar M, Euler CW, et al. Novel phage lysin capable of killing the multidrug-resistant gram-negative bacterium *Acinetobacter baumannii* in a mouse bacteremia model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015 Apr;59(4):1983-91. DOI: 10.1128/AAC.04641-14
25. Oliveira H, Vilas Boas D, Mesnage S, Kluskens LD, Lavigne R, Sillankorva S, et al. Structural and Enzymatic Characterization of ABgp46, a Novel Phage Endolysin with Broad Anti-Gram-Negative Bacterial Activity. *Front Microbiol.* 2016 Feb 26;7:208. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00208
26. Antonova NP, Vasina DV, Lendel AM, Usachev EV, Makarov VV, Gintsburg AL, et al. Broad Bactericidal Activity of the Myoviridae Bacteriophage Lysins LysAm24, LysECD7, and LysSi3 against Gram-Negative ESKAPE Pathogens. *Viruses.* 2019 Mar 21;11(3):284. DOI: 10.3390/v11030284
27. Larpin Y, Oechslin F, Moreillon P, Resch G, Entenza JM, Mancini S. *In vitro* characterization of PlyE146, a novel phage lysin that targets Gram-negative bacteria. *PLoS One.* 2018 Feb 6;13(2):e0192507. DOI: 10.1371/journal.pone.0192507
28. Lai MJ, Lin NT, Hu A, Soo PC, Chen LK, Chen LH, et al. Antibacterial activity of *Acinetobacter baumannii* phage ϕ AB2 endolysin (LysAB2) against both gram-positive and gram-negative bacteria. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2011 Apr;90(2):529-39. DOI: 10.1007/s00253-011-3104-y
29. Huang G, Shen X, Gong Y, Dong Z, Zhao X, Shen W, et al. Antibacterial properties of *Acinetobacter baumannii* phage Abp1 endolysin (PlyAB1). *BMC Infect Dis.* 2014 Dec 12;14:681. DOI: 10.1186/s12879-014-0681-2
30. Abdelkader K, Gerstmanns H, Saafan A, Dishisha T, Briers Y. The Preclinical and Clinical Progress of Bacteriophages and Their Lytic Enzymes: The Parts are Easier than the Whole. *Viruses.* 2019 Jan 24;11(2):96. DOI: 10.3390/v11020096
31. Ketter PM, Guentzel MN, Schaffer B, Herzig M, Wu X, Montgomery RK, et al. Severe *Acinetobacter baumannii* sepsis is associated with elevation of pentraxin 3. *Infect Immun.* 2014 Sep;82(9):3910-8. DOI: 10.1128/IAI.01958-14
32. Harris G, Holbein BE, Zhou H, Xu HH, Chen W. Potential Mechanisms of Mucin-Enhanced *Acinetobacter baumannii* Virulence in the Mouse Model of Intraperitoneal Infection. *Infect Immun.* 2019 Oct 18;87(11):e00591-19. DOI: 10.1128/IAI.00591-19
33. Ko WC, Lee HC, Chiang SR, Yan JJ, Wu JJ, Lu CL, et al. *In vitro* and *in vivo* activity of meropenem and sulbactam against a multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strain. *J Antimicrob Chemother.* 2004 Feb;53(2):393-5. DOI: 10.1093/jac/dkh080
34. Sato Y, Tansho-Nagakawa S, Ubagai T, Ono Y. Analysis of Immune Responses in *Acinetobacter baumannii*-Infected Klotho Knockout Mice: A Mouse Model of

- Acinetobacter baumannii* Infection in Aged Hosts. Front Immunol. 2020 Nov 23;11:601614. DOI: 10.3389/fimmu.2020.601614
35. Gordillo Altamirano F, Forsyth JH, Patwa R, Kostoulis X, Trim M, Subedi D, et al. Bacteriophage-resistant *Acinetobacter baumannii* are resensitized to antimicrobials. Nat Microbiol. 2021 Feb;6(2):157-161. DOI: 10.1038/s41564-020-00830-7
36. Gordillo Altamirano FL, Kostoulis X, Subedi D, Korneev D, Peleg AY, Barr JJ. Phage-antibiotic combination is a superior treatment against *Acinetobacter baumannii* in a preclinical study. EBioMedicine. 2022 Jun;80:104045. DOI: 10.1016/j.ebiom.2022.104045
37. Harris G, Holbein BE, Zhou H, Xu HH, Chen W. Potential Mechanisms of Mucin-Enhanced *Acinetobacter baumannii* Virulence in the Mouse Model of Intraperitoneal Infection. Infect Immun. 2019 Oct 18;87(11):e00591-19. DOI: 10.1128/IAI.00591-19
38. McConnell MJ, Rumbo C, Bou G, Pachón J. Outer membrane vesicles as an acellular vaccine against *Acinetobacter baumannii*. Vaccine. 2011 Aug 5;29(34):5705-10. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.06.001
39. Popova AV, Shneider MM, Myakinina VP, Bannov VA, Edelstein MV, Rubalskii EO, et al. Characterization of myophage AM24 infecting *Acinetobacter baumannii* of the K9 capsular type. Arch Virol. 2019 May;164(5):1493-1497. DOI: 10.1007/s00705-019-04208-x
40. Popova AV, Lavyshe DG, Klimuk EI, Edelstein MV, Bogun AG, Shneider MM, et al. Novel Fri1-like Viruses Infecting *Acinetobacter baumannii*-vB_AbaP_AS11 and vB_AbaP_AS12-Characterization, Comparative Genomic Analysis, and Host-Recognition Strategy. Viruses. 2017 Jul 17;9(7):188. DOI: 10.3390/v9070188
41. Sein J, Cachicas V, Becker MI, De Ioannes AE. Mucin allows survival of *Salmonella* Typhi within mouse peritoneal macrophages. Biol Res. 1993;26(3):371-9.
42. Гуськова ТА. Токсикология лекарственных средств. М., 2003;153. / Gus'kova TA. Toksikologiya lekarstvennykh sredstv. M., 2003;153. (In Russian).
43. Борзилов АИ, Мякина ВП, Коробова ОВ, Комбарова ТИ, Красильникова ВМ, Верёвкин ВВ, и др. Оценка лечебно-профилактической эффективности бактериофага *Klebsiella pneumoniae* vB_KpnP_KpV289 на модели острого сепсиса у мышей. Бактериология. 2017;2(1):73-77. / Borzilov AI, Myakinina VP, Korobova OV, Kombarova TI, Krasilnikova VM, Verevkin VV, et al. Evaluation of preventive and therapeutic efficacy of *Klebsiella pneumoniae* bacteriophage vB_KpnP_KpV289 on the model of acute sepsis in mice. Bacteriology. 2017;2(1):73-77. (In Russian).
44. Борзилов АИ, Коробова ОВ, Комбарова ТИ, Абаев ИВ. Эффективность бактериофага SA18 при лечении экспериментальной стафилококковой инфекции у мышей линии BALB/c. Инфекция и иммунитет. 2017;S:906. / Borzilov AI, Korobova OV, Kombarova TI, Abaev IV. Effektivnost' bakteriofaga SA18 pri lechenii eksperimental'noi stafilokokkovoi infektsii u myshei linii BALB/s. Infektsiya i immunitet. 2017;S:906. (In Russian).
45. Борзилов АИ, Коробова ОВ, Комбарова ТИ, Мякина ВП, Красильникова ВМ, Верёвкин ВВ, и др. Сравнительное изучение антибактериальной активности бактериофага PA5 и полимиксина на модели летальной синегнойной инфекции у мышей. Бактериология. 2019;4(1):34-43. / Borzilov AI, Korobova OV, Kombarova TI, Myakinina VP, Krasilnikova VM, Verevkin VV, et al. Comparative study of antibacterial activities of bacteriophage PA5 and polymyxin on the model of lethal pseudomonas infection in mice. Bacteriology. 2019;4(1):34-43. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-1-34-43 (In Russian).
46. Борзилов АИ, Коробова ОВ, Комбарова ТИ, Мякина ВП, Красильникова ВМ, Верёвкин ВВ, и др. Эффективность бактериофага Pm3 и ципрофлоксацина при лечении экспериментальной протейной инфекции у мышей. Бактериология. 2020;5(1):14-24. / Borzilov AI, Korobova OV, Kombarova TI, Myakinina VP, Krasilnikova VM, Verevkin VV, et al. Effectiveness of bacteriophage Pm3 and ciprofloxacin in treating experimental proteus infections in mice. Bacteriology. 2020;5(1):14-24. DOI: 10.20953/2500-1027-2020-1-14-24 (In Russian).
47. Борзилов АИ, Коробова ОВ, Комбарова ТИ, Денисенко ЕА, Верёвкин ВВ, Ганина ЕА, и др. Эффективность фаготерапии экспериментальной эшерихиозной инфекции у мышей. Бактериология. 2021;6(2):8-22. / Borzilov AI, Korobova OV, Kombarova TI, Denisenko EA, Verevkin VV, Ganina EA, et al. Phage therapy efficiency of experimental escherichiosis infection in mice. Bacteriology. 2021;6(2):8-22. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-2-8-22 (In Russian).
48. Volozhantsev NV, Borzilov AI, Shpirt AM, Krasilnikova VM, Verevkin VV, Denisenko EA, et al. Derived depolymerase (B-glucosidase) against *Klebsiella pneumoniae* capsular type K2. Virus Research. 2022;322:198951. DOI: 10.1016/j.virusres.2022.198951
49. Wang JL, Kuo CF, Yeh CM, Chen JR, Cheng MF, Hung CH. Efficacy of fkm18p phage therapy in a murine model of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* infection. Infect Drug Resist. 2018 Nov 15;11:2301-2310. DOI: 10.2147/IDR.S179701
50. Borzilov AI, Volozhantsev NV, Korobova OV, Kolupaeva LV, Pereskova ES, Kombarova TI, et al. Bacteriophage and Phage-Encoded Depolymerase Exhibit Antibacterial Activity Against K9-Type *Acinetobacter baumannii* in Mouse Sepsis and Burn Skin Infection Models. Viruses. 2025 Jan 6;17(1):70. DOI: 10.3390/v17010070
51. Wu M, Hu K, Xie Y, Liu Y, Mu D, Guo H, et al. A Novel Phage PD-6A3, and Its Endolysin Ply6A3, With Extended Lytic Activity Against *Acinetobacter baumannii*. Front Microbiol. 2019 Jan 9;9:3302. DOI: 10.3389/fmicb.2018.03302
52. Wang Z, Yang X, Wang H, Wang S, Fang R, Li X, et al. Characterization and efficacy against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* of a novel Friunavirus phage from sewage. Front Cell Infect Microbiol. 2024 Apr 22;14:1382145. DOI: 10.3389/fcimb.2024.1382145

Информация о соавторах:

Коробова Ольга Васильевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биологических испытаний ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Комбарова Татьяна Ивановна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биологических испытаний ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Перескокова Евгения Сергеевна, младший научный сотрудник лаборатории биологических испытаний ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Ганина Елена Анатольевна, научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Попова Анастасия Владимировна, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики и гено-инженерных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Information about co-authors:

Olga V. Korobova, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher, Biological Testing Laboratory, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Tatyana I. Kombarova, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher, Biological Testing Laboratory, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Evgenia S. Pereskova, Junior Researcher, Biological Testing Laboratory, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Elena A. Ganina, Researcher, Nanobiotechnology Laboratory, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Anastasia V. Popova, Senior Researcher, Molecular Diagnostics and Genetically Engineered Preparations Laboratory, Molecular Microbiology Department Federal State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор