

Оригинальное исследование
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-731>



Эффективность применения бактериофагов для деструкции биоплёнок на мочевых катетерах в экспериментальных моделях *in vitro* и *in vivo*

Асланов Б.И.^{1,2}, Конев С.Д.^{3&4}, Макарова М.А.^{1,4}, Гаджиев Н.К.³, Горгоцкий И.А.³, Куляш А.Г.³, Рожкован К.В.³, Васютина М.Л.⁵, Мурашова Л.А.⁵, Лошаченко А.С.³, Брюханова В.В.³, Рыбальченко О.В.³, Бондаренко А.С.⁶, Константинова А.М.³, Гальковский Б.Э.³

¹ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;

²ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;

³ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия;

⁴ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Роспотребнадзора, Санкт-Петербург, Россия;

⁵ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;

⁶ООО «Научные технологии и сервис», Черноголовка, Россия

Аннотация

Введение. Проблема формирования биоплёнок возбудителями инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), на инвазивных устройствах, применяющихся в медицинской практике, в настоящее время приобретает высокую актуальность. Существование микроорганизмов — возбудителей инфекций в виде биоплёнок создаёт большие проблемы в медицинской практике, наносит экономический ущерб и снижает качество оказания медицинской помощи. Формированием биоплёнок объясняются причины длительно протекающих инфекционных заболеваний, не поддающихся антибиотикотерапии. В сложившихся условиях одним из эффективных компонентов борьбы с бактериальными инфекциями, в том числе вызванными биоплёночными формами микроорганизмов, может явиться использование бактериофагов. **Цель** работы — оценить эффективность применения литических бактериофагов для деструкции микробных биоплёнок на мочевых катетерах в экспериментальных моделях *in vitro* и *in vivo*.

Материалы и методы. В работе применяли микробиологические, морфологические и электронно-микроскопические методы. *In vitro* моделировали биоплёнки на поверхности мочевых катетеров с последующим добавлением бактериофагов. *In vivo* моделировали катетер-ассоциированную инфекцию мочевыводящих путей (КА-ИМП) у мышей, разделённых на опытную и контрольные группы, с последующим трансуретральным введением бактериофагов.

Результаты. В экспериментальной модели *in vitro* бактериофаги разрушали биоплёнки, вызывая лизис клеток и деструкцию экзополисахаридного матрикса. *In vivo* у мышей опытной группы наблюдался регресс течения КА-ИМП, подтверждённый морфологическими и бактериологическими исследованиями. Электронная микроскопия выявила деструкцию биоплёнок на 5 из 6 катетеров. В группе положительного контроля инфекция прогрессировала, в отрицательном контроле биоплёнки отсутствовали.

Выводы. Результаты проведённых экспериментальных исследований *in vitro* и *in vivo* продемонстрировали, что бактериофаги способны разрушать биоплёнки и могут быть эффективным средством для борьбы с ИСМП, вызванными микроорганизмами, формирующими биоплёнки.

Ключевые слова: бактериофаги; биоплёнки; биоплёночные формы микроорганизмов; инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи; катетер-ассоциированные инфекции мочевыводящих путей; оптическая плотность; сканирующая электронная микроскопия

Этическое утверждение. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с международными и российскими нормами и рекомендациями (ГОСТ 33216 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами», Директива 2010/63/EU по охране животных, используемых в научных целях, приложение А к Европейской конвенции об охране позвоночных животных, используемых для экспериментов и в других научных целях (ETS № 123), СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) (утв. Главным государственным санитарным врачом СССР от 06.04.1973 № 1045-73), ГОСТ Р 51000.3-96 «Общие требования к испытательным лабораториям», ГОСТ Р 51000.4-96 «Общие требования к аккредитации испытательных лабораторий»,

«Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных», утв. Министерством здравоохранения СССР (1977), «Правила по обращению, содержанию, обезболиванию и умерщвлению экспериментальных животных», утв. Министерством здравоохранения РСФСР (1977), Приказ МЗ РФ от 19.06.2003 № 267 (Правила лабораторной практики в РФ)). Протокол исследования одобрен Локальным этическим комитетом СЗГМУ им. И.И. Мечникова (протокол № 3 от 13.03.2024).

Благодарность. Авторы выражают благодарность за помощь в проведении исследований методом электронной микроскопии Междисциплинарному ресурсному центру по направлению «Нанотехнологии» Научного парка СПбГУ в рамках проекта № 125021702335-5.

Источник финансирования. Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 24-15-20022, <https://rscf.ru/project/24-15-20022>, и за счёт гранта Санкт-Петербургского научного фонда № 24-15-20022.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Асланов Б.И., Конев С.Д., Макарова М.А., Гаджиев Н.К., Горгоцкий И.А., Куляш А.Г., Рожкован К.В., Васютина М.Л., Мурашова Л.А., Лошаченко А.С., Брюханова В.В., Рыбальченко О.В., Бондаренко А.С., Константинова А.М., Гальковский Б.Э. Эффективность применения бактериофагов для деструкции биоплёнок на мочевых катетерах в экспериментальных моделях *in vitro* и *in vivo*. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2025;102(6):702–718.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-731>

EDN: <https://www.elibrary.ru/FICDRG>

Original Study Article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-731>

The efficacy of bacteriophages in destroying biofilms on urinary catheters in experimental *in vitro* and *in vivo* models

Batyrbek I. Aslanov^{1,2}, Sergei D. Konev³, Maria A. Makarova^{1,4}, Nariman K. Gadzhiev³, Ivan A. Gorgotsky³, Alexey G. Kulyash³, Konstantin V. Rozhkovan³, Marina L. Vasyutina⁵, Lada A. Murashova⁵, Anton S. Loshachenko³, Vera V. Bryukhanova³, Oksana V. Rybalchenko³, Anton S. Bondarenko⁶, Anastasia M. Konstantinova³, Boris E. Galkovsky³

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia;

²Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russia;

³Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia;

⁴Saint Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia;

⁵Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia;

⁶Scientific Technologies and Service LLC, Chernogolovka, Russia

Abstract

Introduction. The formation of biofilms by healthcare-associated infection (HAI) pathogens on invasive medical devices is an increasingly urgent problem in clinical practice. Microbial biofilms contribute to persistent infections, complicate treatment, increase healthcare costs, and reduce the quality of patient care. The resistance of biofilm-embedded bacteria to antibiotics is a key factor in chronic and recurrent infections. In this context, bacteriophages may serve as a promising therapeutic agent against bacterial infections, including those caused by biofilm-forming microorganisms.

Objective. To assess the efficacy of lytic bacteriophages in disrupting microbial biofilms on urinary catheters using *in vitro* and *in vivo* experimental models.

Materials and methods. The study employed microbiological, morphological, and electron microscopy techniques. *In vitro*, biofilms were cultured on urinary catheter surfaces and subsequently treated with bacteriophages. For the *in vivo* model, catheter-associated urinary tract infection (CAUTI) was induced in mice, which were then divided into experimental and control groups. Bacteriophages were administered transurethrally.

Results. In the *in vitro* model, bacteriophages effectively disrupted biofilms, inducing bacterial cell lysis and degradation of the exopolysaccharide matrix. In the *in vivo* experiments, mice treated with bacteriophages exhibited regression of CAUTI, as confirmed by morphological and bacteriological analyses. Electron microscopy revealed biofilm destruction on 5 out of 6 catheters. In contrast, the positive control group showed progressive infection, while no biofilm formation was observed in the negative controls.

Conclusions. The findings from both *in vitro* and *in vivo* experiments demonstrate that bacteriophages are capable of degrading biofilms and may represent an effective therapeutic strategy against biofilm-associated HAIs.

Keywords: bacteriophages; biofilms; biofilm forms of microorganisms; healthcare-associated infections; catheter-associated urinary tract infections; optical density; scanning electron microscopy

Ethics approval. The authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with international and Russian standards and recommendations (GOST 33216 "Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for the maintenance and care of laboratory rodents and rabbits," Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes, Appendix A to the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS No. 123), SanPiN 3.3686-21 "Sanitary and epidemiological requirements for the prevention of infectious diseases," Sanitary Rules for the Construction, Equipment, and Maintenance of Experimental Biological Clinics (Vivaria) (approved by the Chief State Sanitary Doctor of the USSR on April 6, 1973, No. 1045-73), GOST R 51000.3-96 "General requirements for testing laboratories," GOST R 51000.4-96 "General requirements for the accreditation of testing laboratories," "Rules for conducting work using experimental animals" approved by the Ministry of Health of the USSR (1977), "Rules for the handling, maintenance, anesthesia, and euthanasia of experimental animals" approved by the Ministry of Health of the RSFSR (1977), Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 267 dated June 19, 2003 (Rules of laboratory practice in the Russian Federation)). The research protocol was approved by the Local Ethics Committee of the North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (protocol No. 3, March 3, 2024).

Acknowledgement. The authors would like to express their gratitude to the Interdisciplinary Resource Center for Nanotechnology at the St. Petersburg State University Science Park for its assistance in conducting electron microscopy studies as part of project No. 125021702335-5.

Funding source. This research was funded by a grant from the Russian Science Foundation No. 24-15-20022, <https://rscf.ru/project/24-15-20022>, and a grant from the St. Petersburg Science Foundation No. 24-15-20022.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Aslanov B.I., Konev S.D., Makarova M.A., Gadzhiev N.K., Gorgotsky I.A., Kulyash A.G., Rozhkov K.V., Vasyutina M.L., Murashova L.A., Loshachenko A.S., Bryukhanova V.V., Rybalchenko O.V., Bondarenko A.S., Konstantinova A.M., Galkovsky B.E. The efficacy of bacteriophages in destroying biofilms on urinary catheters in experimental *in vitro* and *in vivo* models. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2025;102(6): 702–718.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-731>

EDN: <https://www.elibrary.ru/FICDRG>

Введение

Текущая глобальная тенденция к росту устойчивости бактерий к антимикробным препаратам (АМП) существенно ограничивает арсенал средств для борьбы с микроорганизмами [1]. Угрожающие масштабы приобретает развитие антибиотикорезистентности и у возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), ассоциированных с биоплёнными формами микроорганизмов [2]. Формированием биоплёнок объясняются причины длительно протекающих инфекционных заболеваний, не поддающихся антибиотикотерапии [3]. Микроорганизмы, входящие в состав биоплёнки, проявляют значительно более высокую устойчивость к АМП — до 1000 раз по сравнению с планктонными клетками [4]. Это существенно затрудняет борьбу с возбудителями ИСМП, ассоциированными с биоплёнными формами микроорганизмов [5]. Особую значимость приобретает и проблема формирования биоплёнок возбудителями ИСМП на инвазивных устройствах, применяющихся в медицинской практике [6–8].

Сохранение текущей тенденции сведёт на нет все современные достижения и успехи в лечении инфекционных заболеваний. В этой связи Всемирная организация здравоохранения и органы здравоохранения во всём мире привлекают внимание к острой необходимости срочного решения проблемы лекарственной устойчивости, призывая всемерно поддерживать усилия по разработке новых

способов борьбы с инфекционными заболеваниями в условиях спада темпа разработок новых АМП многими фармацевтическими компаниями [9].

Одним из эффективных компонентов борьбы с бактериальными инфекциями, в том числе вызванными биоплёнными формами микроорганизмов, может стать использование бактериофагов (БФ) [10]. Применение БФ для деструкции биоплёнок является перспективным направлением и вызывает большой интерес у специалистов различного профиля, что подтверждается увеличением числа научных работ за последние годы [11]. В то же время количество публикаций по данной тематике с использованием метода сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) достаточно ограничено.

Цель работы — оценить эффективность применения литических БФ для деструкции микробных биоплёнок на мочевых катетерах в экспериментальных моделях *in vitro* и *in vivo*.

Материалы и методы

Микробиологические методы

Анализ эффективности воздействия литических БФ для оценки изменений в структуре биоплёнок на фрагментах мочевых катетеров проводили, используя коллекционные бактериальные штаммы возбудителей ИСМП *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 12903/NCTC 27853 и *Escherichia coli* ATCC 25922/NCTC 12241. Выращивание биоплёнок *in vitro* осуществляли на внутренних поверхностях

фрагментов силиконизированных мочевых катетеров Фолея.

Электронно-микроскопические методы

Оценку формирования биоплёнок *P. aeruginosa* и *E. coli* на поверхности фрагментов мочевых катетеров и выявление деструктивных изменений при воздействии БФ осуществляли методом СЭМ на базе ЦКП «Научный парк СПбГУ» в Междисциплинарном ресурсном центре по направлению «Нанотехнологии». Препараты готовили, фиксируя материал в парах 25% раствора глутаральдегида в течение 12 ч при 4°C. После этого для обеспечения стекания избыточного заряда при СЭМ-исследованиях на поверхности формировалась тонкая (5–10 нм) проводящая плёнка: углерод/серебро наносили ионным (Ar^+) распылением соответствующих мишеней в вакуумной камере установки «Gatan PECS (Model 682)», золото — магнетронным распылением в вакуумной камере «ВУП С156RS» (ООО «Научные технологии и сервис»).

Визуализацию биоплёнок проводили на сканирующем электронном микроскопе «Merlin» и двулучевой рабочей станции «Auriga Laser» (оба — «Carl Zeiss») с использованием детектора вторичных электронов Эверхарта–Торнли. Условия проведения съёмки варьировались в зависимости от образца для получения максимального контраста и качества изображения: ускоряющее напряжение — 5–20 кВ, ток пучка — 500–700 пА.

Подбор БФ проводили методом спот-тестирования, оценивая их литическую активность по пятибалльной шкале (по количеству «крестов»). В работе использовали специфические к исследуемым штаммам БФ «Секстафаг» и «Интестифаг» (НПО «Микроген») с высокой литической активностью «++++» (рис. 1).

Выращивание бактериальных биоплёнок возбудителей ИСМП проводили на фрагментах мочевых катетеров Фолея длиной 1 см, рассечённых вдоль для доступности внутренней поверхности.

Манипуляции с мочевыми катетерами проводили в стерильных условиях. Бактериальные суспензии исследуемых штаммов *P. aeruginosa* и *E. coli* разводили в стерильной питательной среде до стандартной мутности 0,5 по McFarland, затем засеивали сплошным газоном в чашки Петри на поверхность агар Мюллера–Хинтона. На засеянные газон исследуемые штаммы возбудителей ИСМП помещали по 5 фрагментов мочевых катетеров на каждую чашку Петри. На каждый фрагмент наносили по 50 мкл жидкой питательной среды и помещали чашки Петри в термостат. Культивирование проводили в условиях термостатирования при 37°C в течение 24 ч.

Через 1 сут после инкубирования фрагменты мочевых катетеров удаляли с поверхности плотной питательной среды, помещали в индивидуальные стерильные пробирки эппендорф объёмом 1,5 мл, где их двукратно отмывали от планктонных форм клеток. Процедура отмывки заключалась в добавлении в пробирки 1 мл стерильной воды, обработке в аппарате «Vortex» 30 с при 1500 об/мин, центрифугировании в течение 30 с при 13 000 об/мин и последующем удалении надосадочной жидкости. Фрагменты мочевых катетеров, не задевая осадка, переносили в новые стерильные пробирки эппендорф. Затем один из 5 фрагментов проходил контрольную экспресс-оценку на наличие биоплёнок по методу G.A. O'Toole и соавт., основанному на способности красителя генциан фиолетового связываться с экзополисахаридным матриксом биоплёнок [12]. Биоплёнкообразование оценивали, измеряя оптическую плотность (ОП, единицы оптической плотности) на микропланшетном спектрофотометре «Thermo Scientific Multiskan GO» при длине волны 590 нм [13].

Другой аналогичный фрагмент мочевых катетеров готовили по стандартной методике фиксации для исследования в СЭМ.

Остальные фрагменты мочевых катетеров помещали на чашки Петри с плотной питательной

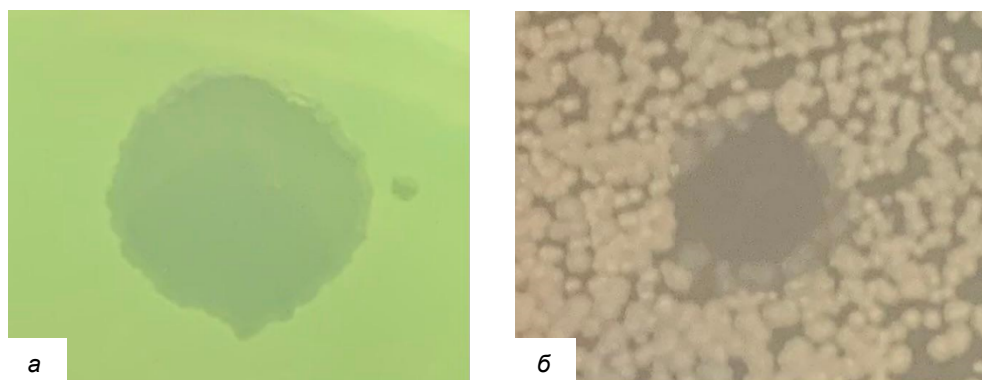


Рис. 1. Визуальная оценка литической активности БФ.

а — сплошной лизис культуры *P. aeruginosa* на месте капли без колоний вторичного роста (++++);
б — сплошной лизис культуры *E. coli* на месте капли без колоний вторичного роста (++++).

средой Мюллера–Хинтона. На 1 из 3 оставшихся образцов наносили 50 мкл препарата БФ, специфичного к исследуемому бактериальному штамму, при этом на оставшиеся 2 фрагмента мочевого катетера наносили по 50 мкл стерильной питательной среды. Затем чашки помещали для инкубирования в термостат при 37°C ещё на 24 ч.

На 3-и сутки эксперимента проводили визуальную оценку роста колоний микроорганизмов на чашке Петри (рис. 2). Затем фрагменты мочевых катетеров удаляли с плотной питательной среды и после отделения от суспензионных клеток (см. описание процедуры выше) фиксировали препараты по стандартной методике для СЭМ. При этом один из фрагментов проходил контрольную экспресс-оценку на наличие биоплёнок методом G.A. O'Toole и соавт. [12] с последующим измерением ОП.

В части исследования, посвящённой оценке эффективности применения БФ для деструкции биоплёнок *P. aeruginosa in vivo*, на экспериментальной модели катетер-ассоциированной инфекции мочевыводящих путей (КА-ИМП) у мышей исследовали извлечённые при выведении животных из эксперимента 4-мм фрагменты длительно стоявших (в течение 5 дней) в мочевом пузыре тefлоновых катетеров «26G Polyflex» («Polymed»). Подбор БФ осуществляли методом спот-тестирования, в эксперименте использовали препарат «Секстафаг» (НПО «Микроген»), специфичный к исследуемым штаммам с высокой литической активностью («++++»). Для оценки формирования биоплёнок *P. aeruginosa* на поверхности фрагментов катетеров и для выяв-

ления деструктивных изменений при воздействии БФ применяли метод СЭМ (по описанной выше методике).

В эксперименте было использовано 18 половозрелых аутбредных лабораторных мышей-самок ICR (CD-1) в возрасте 2–4 мес, массой 17–24 г, содержащихся в идентичных условиях, которые были разделены на 3 группы: опытную, группу положительного и отрицательного контролей, по 6 животных в каждой. Для распределения по группам животные были рандомизированы с использованием генератора случайных чисел.

Опытную группу составляли катетеризированные мыши с моделированной КА-ИМП, ассоциированной с формированием биоплёнок *P. aeruginosa* на инвазивном устройстве, получающие БФ трансуретрально. В группу положительного контроля входили катетеризированные мыши с моделированной КА-ИМП, связанной с формированием биоплёнок *P. aeruginosa* на инвазивном устройстве, не получающие БФ. Группу отрицательного контроля формировали катетеризированные мыши без моделирования КА-ИМП и не получающие БФ.

При выполнении манипуляций по катетеризации мочевого пузыря применяли ингаляционный наркоз. Для анестезии использовали изофлуран, индукцию осуществляли колпачковым методом. Наркоз поддерживали с помощью удлинённого носового конуса с ватными шариками, пропитанными 0,5 мл изофлурана, без применения испарителя. Наркотизированных мышей укладывали на спину на стерильную пелёнку. Периуретральную область про-

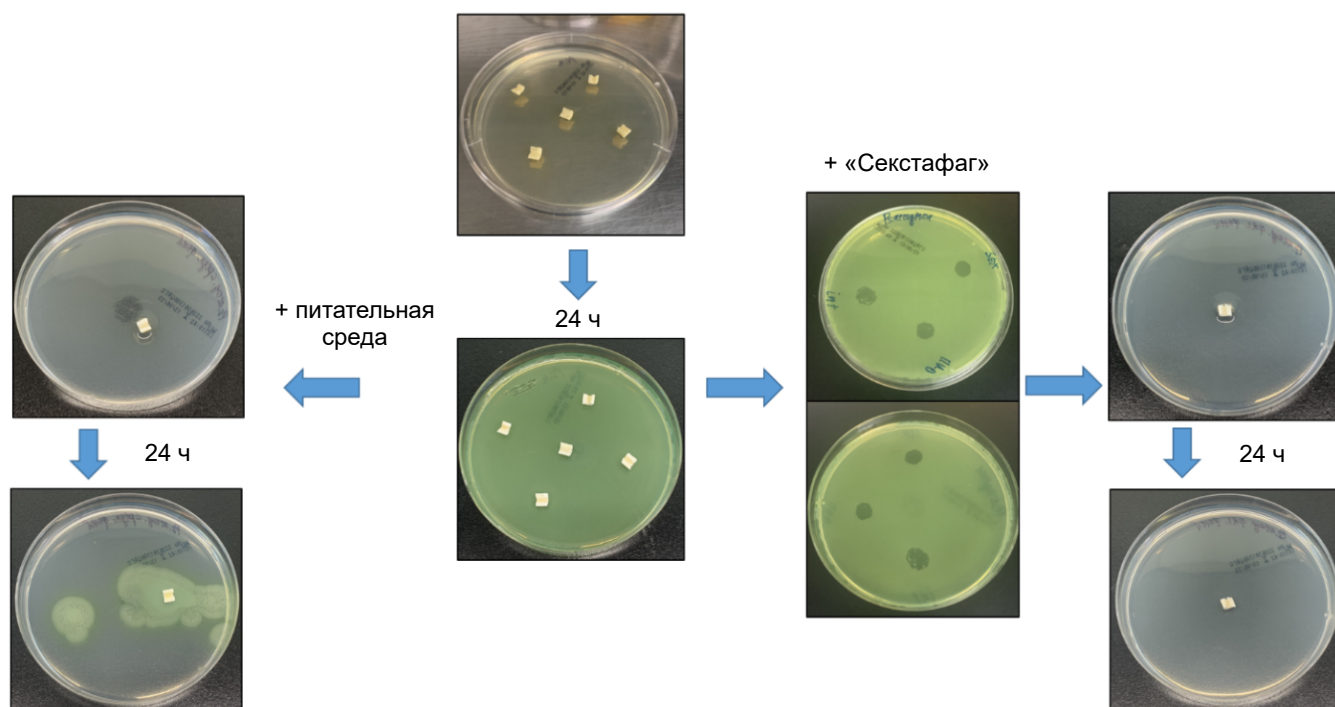


Рис. 2. Моделирование биоплёнок *P. aeruginosa* и *E. coli* на фрагментах мочевых катетеров Фолея с последующим добавлением питательной среды или БФ (на примере *P. aeruginosa*).

тирали салфеткой с 0,05% хлоргексидина биглюконатом, обрабатывали 10% раствором повидон-йода с помощью аппликатора с ватным наконечником. Затем через периферический катетер «22 G Vasofix Certo» («B Braun»), обработанный в стерильной хирургической смазке и проведённый через уретру в мочевого пузыря мыши, с помощью иглы «проводника» вводили 4-мм фрагмент тefлонового катетера «26 G Polyflex» и оставляли его в мочевом пузыре. После этого периферический катетер 22 G извлекали из уретры. Данную манипуляцию проводили в каждой группе лабораторных животных.

Моделирование КА-ИМП у лабораторных животных в опытной группе и группе положительного контроля проводили в соответствии с протоколом M.S. Conover и соавт. [14] с использованием коллекционного бактериального штамма *P. aeruginosa* ATCC 12903/NCTC 27853. После катетеризации мочевого пузыря инсулиновым шприцем через периферический катетер «26 G Polyflex» мышам трансуретрально вводили 50 мкл бактериальной взвеси *P. aeruginosa* мутностью 0,5 по McFarland (рис. 3).

В последующем, начиная со 2-х суток после катетеризации мочевого пузыря и моделирования КА-ИМП, мышам опытной группы инсулиновым шприцем через периферический катетер «26 G Polyflex» трансуретрально вводили по 50 мкл БФ (секстафаг, НПО «Микроген») 1 раз в день в течение 3 дней под анестезией по описанной выше методике.

Динамику КА-ИМП у лабораторных животных всех групп оценивали с помощью микробиологического исследования мочи перед началом эксперимента, на 2-й и 5-й дни. Сбор мочи осуществляли в стерильные пробирки объёмом 1,5 мл путём механического надавливания на область мочевого пузыря, держа мышь над пробиркой. Затем выполняли стандартный посев мочи по Голду на чашки Петри с плотной питательной средой УТИ. Чашки с посевами инкубировали в условиях термостатирования 48 ч при 37°C. Оценку роста микроорганизмов проводили согласно указанной методике с верификацией микроорганизмов методом времяпролётной масс-спектрометрии (MALDI-TOF).

В ходе эксперимента осуществляли клинический осмотр мышей перед каждым введением, оценивали следующие признаки: наличие вынужденной (сгорбленной) позы, признаков истощения и обезвоживания, изменение состояния кожных покровов, наличие гиперемии в области наружных половых органов, изменение активности.

Эвтаназию проводили методом умерщвления животных путём передозировки изофлурана с последующей цервикальной дислокацией.

Дополнительно для оценки выраженности и активности воспалительного процесса в мочевыводящей системе у лабораторных животных по окончании эксперимента применяли морфологический

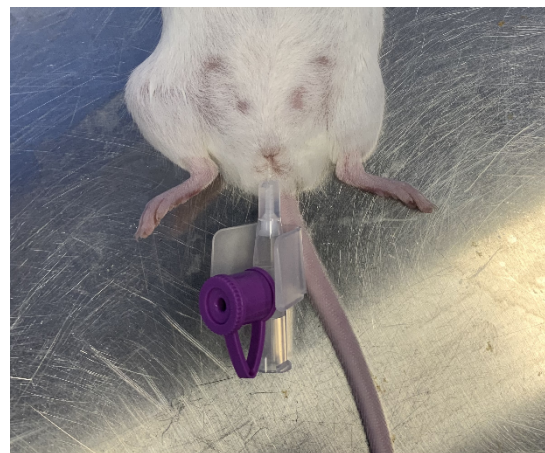


Рис. 3. Трансуретральный доступ для введения бактериальной взвеси *P. aeruginosa* через периферический катетер «26 G Polyflex».

метод исследования.

Морфологический метод

Световую микроскопию осуществляли в патолого-анатомическом отделении № 2 Клиники высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова СПбГУ.

Материал фиксировали в достаточном объёме в 10% раствора забуференного нейтрального формалина в течение 24 ч. Стандартную гистологическую проводку осуществляли в аппарате «HISTO-TEK VP1» («Sakura»), затем материал почек и мочевых пузырей заливали в парафин и серийно нарезали на микротоме «Epradia HM 340E» («Thermo Fisher Scientific»). Полученные гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином по стандартному протоколу. Морфологическое исследование проводили на световом микроскопе «Leica DM 1000» («Leica»). Микрофотографии были получены при съёмке на камеру «Leica Flexacam C3» («Leica») с использованием программного обеспечения LAS X. Морфометрический анализ изображений осуществляли посредством программного обеспечения FIJI, он включал анализ воспалительного инфильтрата в слизистой и собственной пластинке мочевого пузыря, лоханке и паренхиме почки. Также производили оценку морфологических изменений уротелия, в том числе наличия колоний бактерий с определением процентного соотношения к общей площади поверхности слизистой в препарате, отмечали микроскопические особенности собственной пластинки слизистой, наличие, степень выраженности некрозов и нейтрофильных цилиндров в канальцах почки и их процентное соотношение к сохранившейся паренхиме почки. Морфометрический анализ параметров производился на площади 0,2 мм² в зонах с самыми выраженными изменениями («горячих точках»).

Выраженность воспаления оценивали полуколичественно. По составу клеток воспалительного инфильтрата на 1 поле зрения ($0,2 \text{ мм}^2$) при увеличении $\times 400$ («+» — до 30 клеток, «++» — 31–79 клеток, «+++» — ≥ 80 клеток, «–» — отсутствие воспалительного инфильтрата).

Статистический анализ данных проводили с использованием программного обеспечения R (версия 4.4.3). Данные о показателях ОП представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения ($M \pm SD$). Для сравнения показателей ОП биоплёнок, сформированных разными штаммами микроорганизмов, с отрицательным контролем использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни, поскольку распределение значений в группах не проверялось на нормальность ввиду малого объёма выборки. Статистическую значимость различий в микробной нагрузке (КОЕ/мл) между группами животных в эксперименте *in vivo* оценивали с помощью критерия Манна–Уитни для независимых выборок. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

При моделировании и последующей визуализации суточных биоплёнок на фрагментах силиконизированных мочевых катетеров Фолея были получены средние значения ОП для различных штаммов бактерий *P. aeruginosa*, *E. coli* и отрицательного контроля ($0,103 \pm 0,002$ ед. опт. пл.). Полученные результаты классифицировали по степени их биоплёнкообразующего потенциала согласно методике [15].

Сравнение полученных показателей ОП с показателями ОП отрицательного контроля показало, что клетки исследуемых штаммов *P. aeruginosa* ($0,168 \pm 0,003$ ед. опт. пл.) и *E. coli* ($0,154 \pm 0,005$ ед. опт. пл.) проявляли «умеренную» тенденцию к образованию биоплёнок. Средние значения ОП ис-

следуемых штаммов превышали значения ОП отрицательного контроля приблизительно в 1,5 раза ($p < 0,05$). В то же время при экспресс-индикации двухсуточных биоплёнок на фрагментах силиконизированных мочевых катетеров Фолея средние значения ОП составляли для *P. aeruginosa* — $0,215 \pm 0,008$ и *E. coli* — $0,203 \pm 0,005$ ед. опт. пл., что свидетельствовало о превышении значений показателей результатов ОП суточных биоплёнок и отрицательного контроля ($p < 0,05$).

На сканограммах мочевых катетеров после культивирования бактериальных штаммов *P. aeruginosa* и *E. coli* в течение 24 ч без обработки БФ отмечено наличие микробных сообществ в виде сформированных биоплёнок, при этом в толще межклеточного матрикса, объединяющего бактерии в единую структуру биоплёнки, выявлены многочисленные делящиеся клетки (рис. 4).

Через 48 ч инкубирования мочевых катетеров с бактериальными штаммами без добавления БФ наблюдали интенсивно развитые многослойные биоплёнки *P. aeruginosa* и *E. coli* (рис. 5).

Электронно-микроскопический анализ поверхности мочевых катетеров с суточной модельной биоплёнкой *P. aeruginosa* и *E. coli* после однократного воздействия БФ с экспозицией в течение 24 ч показал выраженные признаки разрушения микробного сообщества. Деструктивное воздействие БФ проявлялось как на вегетативные формы микроорганизмов, так и на их биоплёночные сообщества. В первую очередь отмечено изменение морфологии бактериальных клеток, входящих в состав сохранившихся фрагментов биоплёнок, что проявлялось в деформации поверхности клеточной стенки и её разрушении. Нарушения в структуре клеточной стенки сопровождалось деструктивными изменениями формы бактериальных клеток. В конечном итоге воздействие БФ приводило к лизису большинства бактериальных

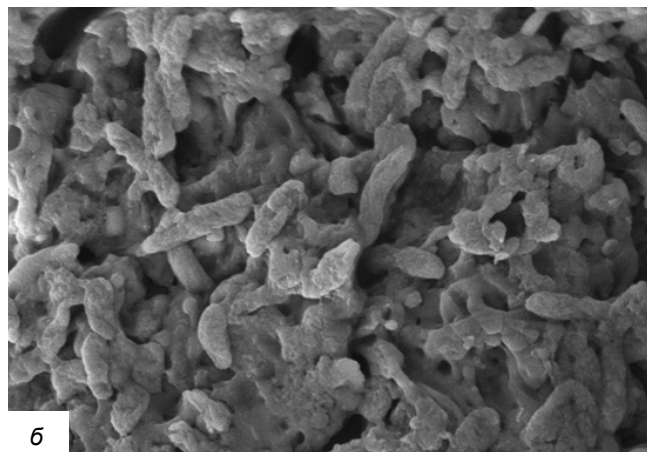
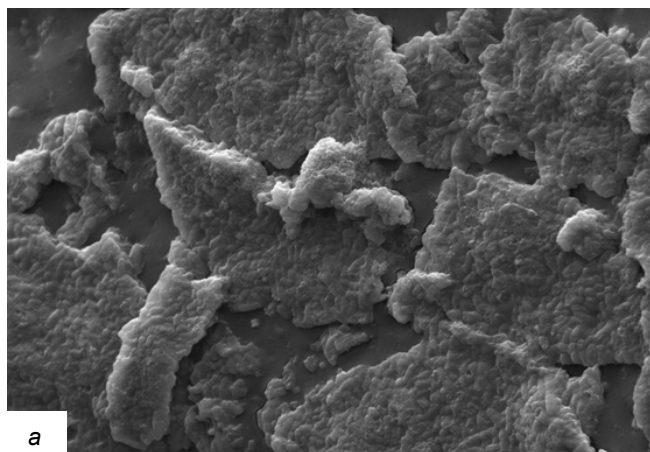


Рис. 4. СЭМ-изображение внутренней поверхности фрагмента мочевого катетера Фолея с 24-часовой биоплёнкой.
а — бактериальная биоплёнка *P. aeruginosa* (24 ч), $\times 5000$; б — бактериальная биоплёнка *E. coli* (24 ч), $\times 20\,000$.

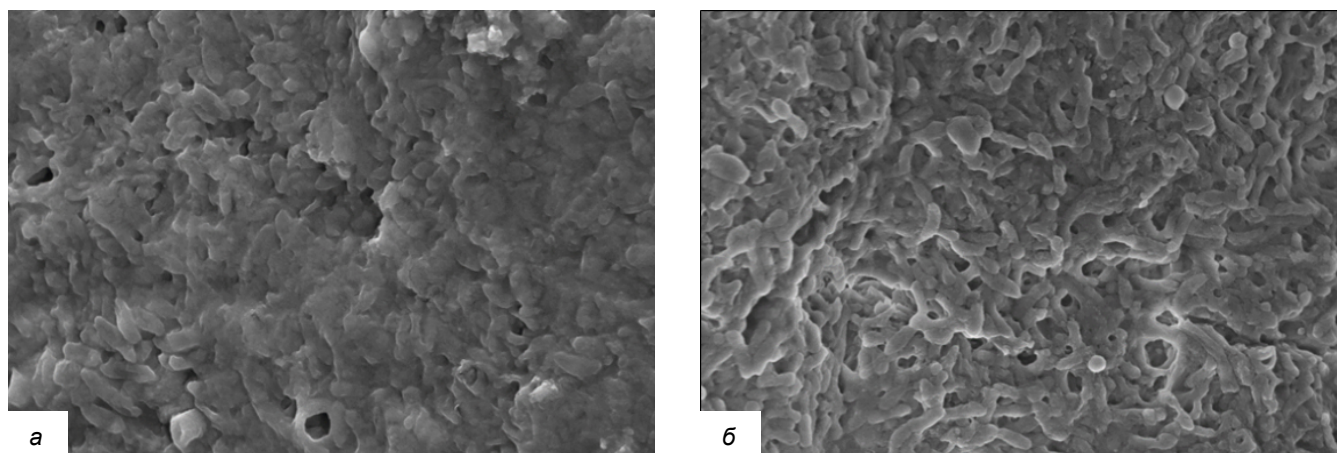


Рис. 5. СЭМ-изображение внутренней поверхности фрагмента мочевого катетера Фолея с 48-часовой биоплёнкой.
а — бактериальная биоплёнка *P. aeruginosa* (48 ч), $\times 10\,000$; б — бактериальная биоплёнка *E. coli* (48 ч), $\times 10\,000$.

клеток вследствие деструкции клеточных стенок. О разрушении значительной части клеток в биоплёнках свидетельствовало обнаружение участков скопления клеточного детрита. При этом отмечено выраженное уменьшение числа бактерий на поверхности субстрата, сохранивших морфологические свойства, характерные для жизнеспособных форм бактериальных клеток (**рис. 6**). На уровне биоплёночного сообщества микроорганизмов об изменении структуры биоплёнок *P. aeruginosa* и *E. coli* в результате воздействия БФ свидетельствовала деструкция межклеточного экзополисахаридного матрикса, вплоть до его полного исчезновения на отдельных участках микробного сообщества.

В части исследования, посвящённого оценке эффективности применения БФ для деструкции биоплёнок *P. aeruginosa* *in vivo* на экспериментальной модели КА-ИМП у мышей, результаты работы показали, что в ходе эксперимента в группе положи-

тельного контроля (животные с установленным катетером, после введения *P. aeruginosa* и без инстилляции БФ) у 5 из 6 животных, отмечалось прогрессирование течения КА-ИМП. Во время проведения клинических осмотров, начиная со 2-х суток эксперимента и до его завершения, в области наружных половых органов мышей регистрировалась гиперемия.

При проведении бактериологических исследований мочи в реперных точках (2-й и 5-й дни) в данной группе наблюдалась тенденция к значимому увеличению микробной нагрузки *P. aeruginosa* от 10^1 до 10^3 КОЕ/мл. При бактериологическом исследовании мочи перед началом эксперимента у одной мыши этой группы был выявлен рост *Aerococcus viridans* в титре < 100 КОЕ/мл, что могло быть связано с контаминацией биоматериала при отборе или эндогенной колонизации данного локуса. *A. viridans* — известный грамположитель-

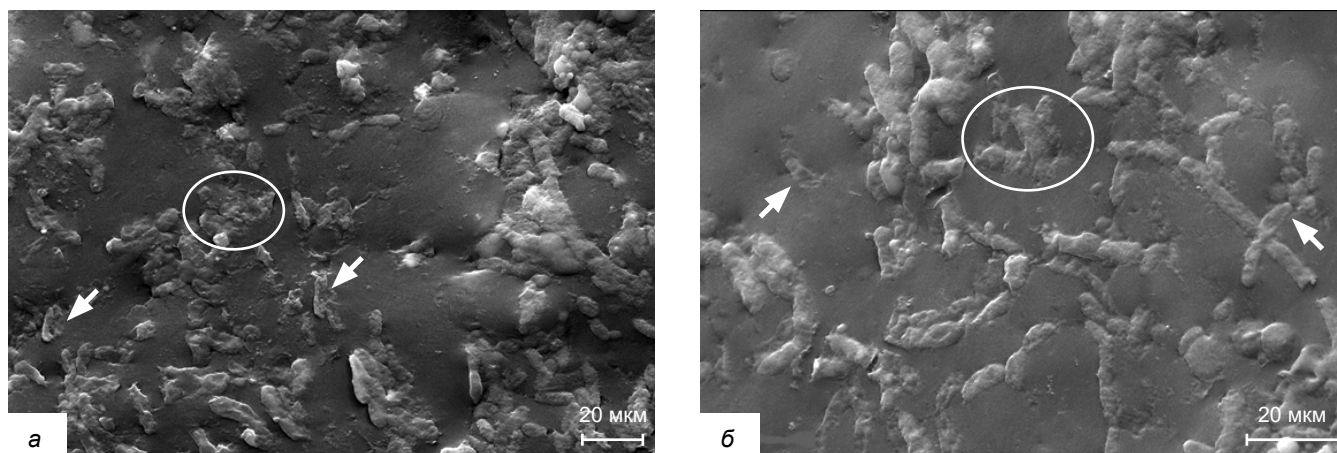


Рис. 6. СЭМ-изображение деструктивных изменений суточной биоплёнки на поверхности фрагмента мочевого катетера Фолея после однократного воздействия БФ.

Овалом отмечены участки скопления клеточного детрита. Стрелкой указаны деструктивные изменения клеточных стенок.
а — деструкция биоплёнки *P. aeruginosa* после воздействия секстафага, $\times 10\,000$; б — деструкция биоплёнки *E. coli* после воздействия интестифага, $\times 15\,400$.

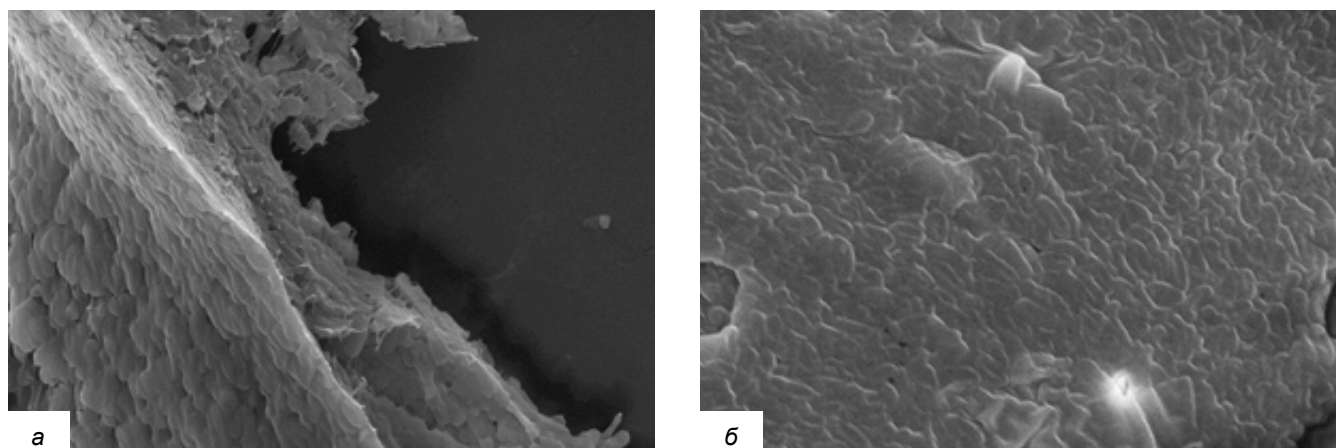


Рис. 7. СЭМ-изображение поверхности удалённых фрагментов катетеров из мочевого пузыря животных.

а — фрагмент катетера с сформированной биоплёнкой *P. aeruginosa*, $\times 8590$; *б* — фрагмент катетера с сформированной биоплёнкой *P. aeruginosa*, $\times 10\,000$.

ный условно-патогенный микроорганизм, который может поражать различных животных, включая мышей, особенно с иммунодефицитом [16]. Однако при бактериологическом исследовании в последующих реперных точках у этого животного *A. viridans* не выявлялся.

По данным электронно-микроскопического анализа, на инвазивных устройствах наблюдались сформированные микробные сообщества микроорганизмов в виде биоплёнок *P. aeruginosa* (рис. 7).

При морфологическом исследовании у данных мышей (5 из 6) группы положительного контроля выраженность воспалительного процесса в тканях соответствовала подострому активному циститу

и подострому активному пиелиту соответственно (рис. 8).

У 1 из 6 животных данной группы при моделировании не произошло развития КА-ИМП, что подтверждалось данными клинических осмотров (отсутствием гиперемии наружных половых органов, признаков истощения и обезвоживания и т. д.), результатами бактериологических, морфологических и электронно-микроскопических методов исследования.

В опытной группе (животные с установленным катетером, после введения *P. aeruginosa* с последующими инстилляциями БФ) у 3 из 6 мышей отмечались регресс течения КА-ИМП и положительная

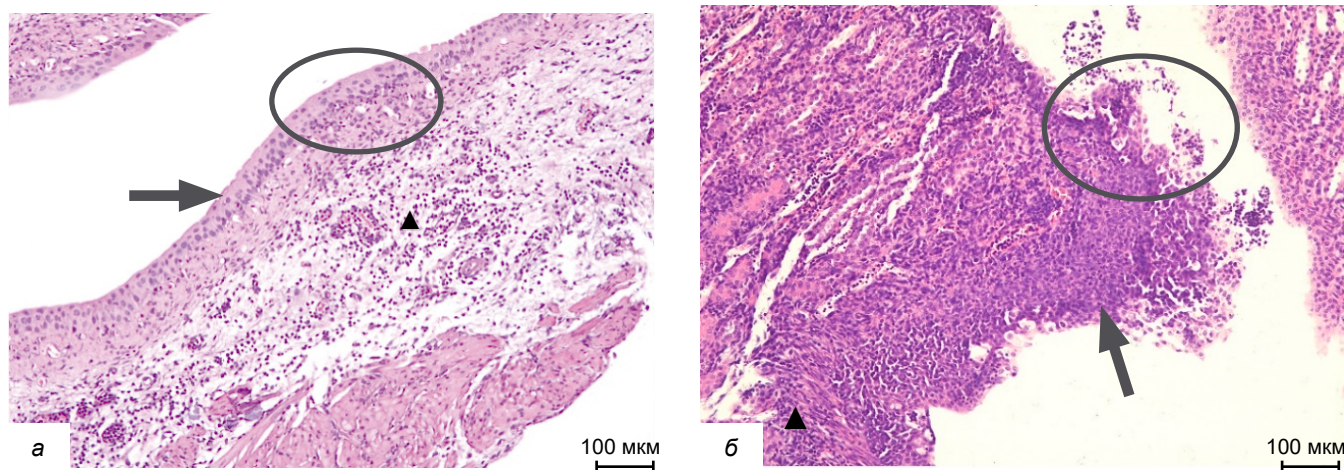


Рис. 8. Воспалительный процесс в тканях мышей группы положительного контроля. Электронная микроскопия, окрашивание гематоксилином и эозином, $\times 100$.

а — подострый активный цистит. Стрелкой указан уротелий, выстилающий слизистую мочевого пузыря. Овалом отмечена зона интраэпителиального распространения немногочисленных нейтрофильных гранулоцитов и лимфоцитов в уротелий. Треугольником маркирован умеренный лимфоцитарный воспалительный инфильтрат собственной пластинки слизистой с примесью гистиоцитов и нейтрофильных гранулоцитов, а также умеренный отёк стромы и полнокровные сосуды;

б — подострый активный пиелит. Стрелкой указан уротелий, выстилающий слизистую лоханки, отмечаются реактивные изменения в виде увеличения количества слоёв клеток, их дистрофии и локального нарушения полярности. Овалом отмечена зона интраэпителиального распространения нейтрофильных гранулоцитов в уротелий. Треугольником маркирован умеренный лимфоцитарный воспалительный инфильтрат с примесью гистиоцитов и плазмоцитов в строме почки.

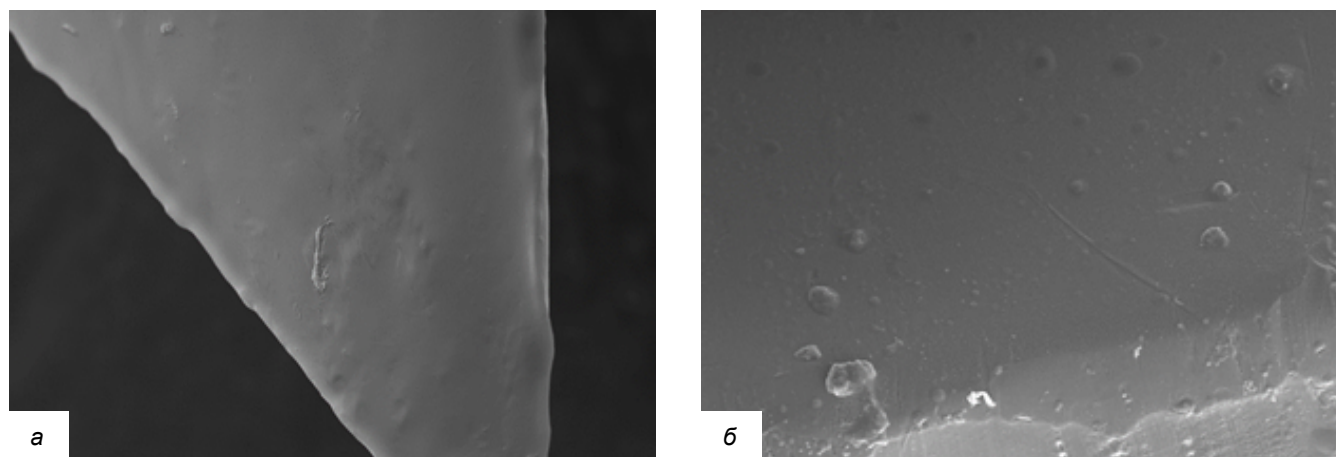


Рис. 9. СЭМ-изображение поверхности удалённых фрагментов катетера из мочевого пузыря животных.
а — отсутствие биоплёнки *P. aeruginosa* на поверхности удалённого фрагмента катетера, $\times 5000$; б — отсутствие биоплёнки *P. aeruginosa* на поверхности удалённого фрагмента катетера, $\times 10\,000$.

динамика, на что указывали результаты бактериологических и морфологических исследований, клинических осмотров, данные СЭМ.

По данным бактериологических исследований мочи, перед началом эксперимента ни у одной мыши данной группы не было выявлено роста флоры. Далее, при моделировании КА-ИМП на 2-е сутки эксперимента, до введения БФ у каждой мыши отмечалось развитие бактериурии, вызванной *P. aeruginosa*, микробная нагрузка при этом составила 10^1 – 10^3 КОЕ/мл. Затем, после инстилляций БФ в мочевой пузырь, у 4 из 6 животных на 5-е сутки эксперимента в моче роста флоры не выявлено. У 2 из 6 мышей в моче установлен рост *P. aeruginosa* 10^1 и 10^4 КОЕ/мл, при этом у одной из них отмечалось фульминантное течение ИМП, что также было зафиксировано при клинических осмотрах (гиперемия наружных половых органов, по-

теря массы тела, наличие вынужденной (сгорбленной) позы и изменение активности) и подтверждено при микроскопическом исследовании (гнойный абсцедирующий пиелит и интерстициальный нефрит, гнойный некротический папиллит).

Электронно-микроскопический анализ удалённых фрагментов катетеров, извлечённых из мочевого пузыря животных с отрицательным результатом бактериологического исследования на 5-й день эксперимента, которым трансуретрально выполнялись инстилляций литического БФ, свидетельствовал о деструкции экзополисахаридного матрикса биоплёнок и лизисе клеток *P. aeruginosa* (рис. 9).

При микроскопическом исследовании у мышей опытной группы с регрессом течения КА-ИМП и наблюдающейся положительной динамикой (3 из 6) морфологических признаков воспаления в исследованном материале не выявлено (рис. 10).

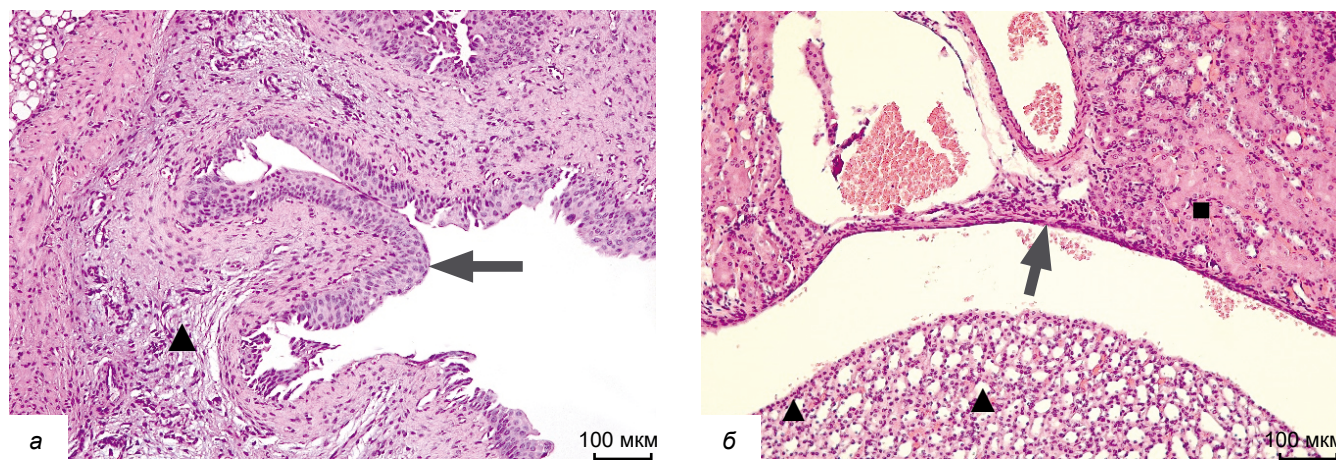


Рис. 10. Уротелий без признаков воспаления и дистрофии (стрелка) на микропрепарате мочевого пузыря (а) и почки (б). Электронная микроскопия, окрашивание гематоксилином и эозином, $\times 100$.

а — треугольником отмечена собственная пластинка слизистой со слабым отёком и слабым полнокровием сосудов;
б — стрелкой указан уротелий без признаков воспаления и дистрофии, треугольником отмечен сосочек. Квадратом маркированы каналы почки типичного строения.

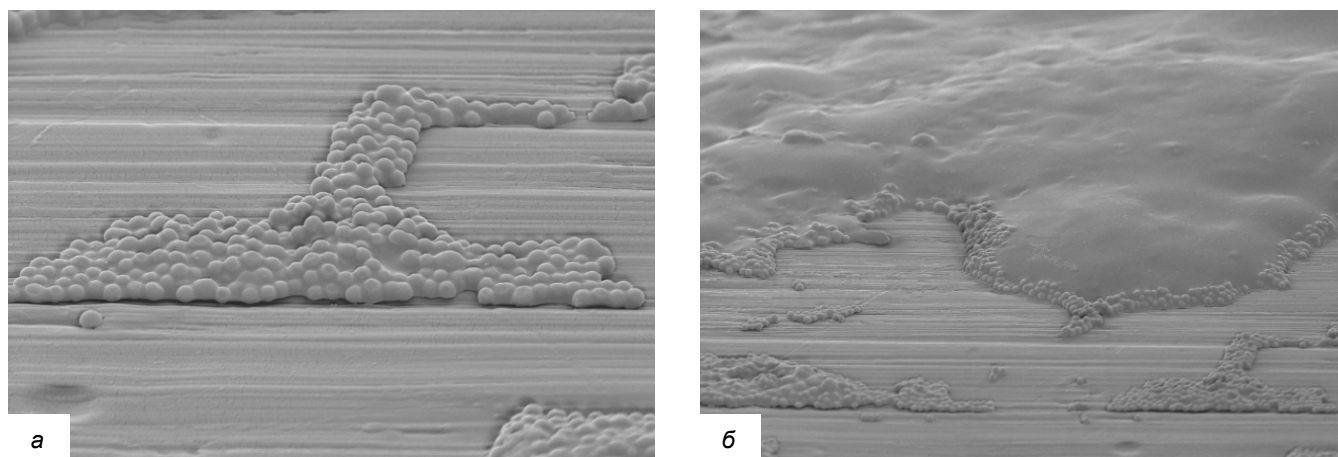


Рис. 11. СЭМ-изображение поверхности удалённого фрагмента катетера.

а — бактериальная биоплёнка *S. nepalensis*, $\times 8250$; **б** — обзорное изображение бактериальной биопленки *S. nepalensis*, покрытой сверху поверхностной пленкой, с окаймляющими ее по краям клетками *S. nepalensis*, $\times 2890$.

Среди 3 оставшихся мышей в опытной группе при морфологическом исследовании у 2 животных выраженность воспалительного процесса в тканях соответствовала подострому активному циститу и подострому активному пиелиту (у 1 мыши на поверхности катетера была выявлена биоплёнка *P. aeruginosa*, у другой под воздействием БФ происходила деструкция сформированной биоплёнки согласно данным СЭМ); у 3-го животного выраженность воспалительного процесса в тканях соответствовала гнойному абсцедирующему пиелиту, интерстициальному нефриту и гнойному некротическому папиллиту, при этом также наблюдалась деструкция сформированной биоплёнки.

Важно отметить, что для животного с наиболее выраженным воспалением и фульминантной формой течения ИМП инфекционный процесс локализовался в верхних отделах мочевыводящих путей, в то время как в нижних отделах на момент завершения эксперимента он отсутствовал. По нашему мнению, это может быть объяснено действием фага в нижних мочевыводящих путях и недостаточным достижением концентрации в верхних мочевыводящих путях.

Группа отрицательного контроля (животные с установленным катетером, без введения *P. aeruginosa* и без инстилляций БФ) не имела значимых особенностей и характеризовалась отсутствием развития ИМП, за исключением 2 мышей, при бактериологическом исследовании мочи которых был выявлен рост *Staphylococcus nepalensis* в титре менее 100 КОЕ/мл. *S. nepalensis* — коагулазо-негативный стафилококк, который впервые был обнаружен в Непале у коз с пневмонией, считается частью нормальной флоры млекопитающих, в том числе мышей, включая желудочно-кишечный тракт, он также может вызывать инфекции [17]. Выделение данного микроорганизма могло быть связано с контаминацией вводимого катетера или

эндогенной колонизацией данного локуса. При этом на 2-й и 5-й дни эксперимента у одной из этих мышей был получен отрицательный результат при бактериологическом исследовании мочи, а у другой мыши в моче был выявлен рост *S. nepalensis* в титре 10^1 и 10^3 КОЕ/мл соответственно, что также подтверждается данными СЭМ: на катетере, извлечённом из мочевого пузыря этой мыши, была идентифицирована биоплёнка *S. nepalensis* (рис. 11). На остальных катетерах от других животных в данной группе при электронно-микроскопическом анализе биоплёночные формы микроорганизмов отсутствовали.

При морфологическом исследовании в группе отрицательного контроля у 5 из 6 животных микроскопических признаков воспаления в исследованном материале не выявлено. Тогда как у мыши, выделявшей с мочой *S. nepalensis*, морфологическая картина в тканях соответствовала подострому активному циститу и подострому активному пиелиту.

Результаты выполненных в ходе эксперимента бактериологических, морфологических и электронно-микроскопических исследований среди всех групп животных представлены в **таблице**.

Важно отметить, что вопросы безопасности, включая токсикологическую оценку и анализ местнораздражающих эффектов, не входили в задачи текущего этапа работы и требуют отдельного изучения в дальнейших исследованиях.

Обсуждение

В настоящее время активно обсуждается проблема альтернативной замены АМП с целью эффективной профилактики и лечения инфекционных заболеваний. Поиск альтернативного пути воздействия на условно-патогенные микроорганизмы включает необходимость исследования и разработки новых антимикробных факторов. Именно этими

Результаты бактериологических, морфологических и электронно-микроскопических исследований, выполненных в ходе эксперимента *in vivo*

Поряд- ковый номер мыши	Результат бактериологического посева мочи, КОЕ/мл			Наличие сформи- рованной биоплёнки	Выраженность воспалительного процесса в ткани			
	до эксперимента	на 2-й день эксперимента	на 5-й день эксперимента		микропрепарат почки		микропрепарат мочевого пузыря	
					наличие	выраженность	наличие	выраженность
1. Опытная группа								
1.1	Не обнаружено роста факультативно-анаэробной микрофлоры (ФАМ)	<i>P. aeruginosa</i> , 10 ¹	<i>P. aeruginosa</i> , 10 ¹	Да	Да	+	Да	+
1.2	Не обнаружено роста ФАМ	<i>P. aeruginosa</i> , 10 ²	Не обнаружено роста ФАМ	Нет	Нет	–	Нет	–
1.3	Не обнаружено роста ФАМ	<i>P. aeruginosa</i> , 10 ²	Не обнаружено роста ФАМ	Нет	Да	+	Да	+
1.4	Не удалось собрать мочу	<i>P. aeruginosa</i> , 10 ¹	Не обнаружено роста ФАМ	Нет	Нет	–	Нет	–
1.5	Не обнаружено роста ФАМ	<i>P. aeruginosa</i> , 10 ³	<i>P. aeruginosa</i> , 10 ⁴	Нет	Да	+++	Нет	–
1.6	Не обнаружено роста ФАМ	<i>P. aeruginosa</i> , 10 ²	Не обнаружено роста ФАМ	Нет	Нет	–	Нет	–
2. Положительный контроль								
2.1	Не обнаружено роста ФАМ	Не удалось собрать мочу	Не обнаружено роста ФАМ	Нет	Нет	–	Нет	–
2.2	Не обнаружено роста ФАМ	<i>P. aeruginosa</i> , 10 ¹	<i>P. aeruginosa</i> , 10 ³	Да	Да	++	Да	++
2.3	<i>A. viridans</i> , < 100	<i>P. aeruginosa</i> , 10 ²	<i>P. aeruginosa</i> , 10 ³	Да	Да	++	Да	++
2.4	Не обнаружено роста ФАМ	<i>P. aeruginosa</i> , 10 ²	<i>P. aeruginosa</i> , 10 ³	Да	Да	+	Да	+
2.5	Не удалось собрать мочу	<i>P. aeruginosa</i> , 10 ²	<i>P. aeruginosa</i> , 10 ³	Да	Да	++	Да	++
2.6	Не обнаружено роста ФАМ	<i>P. aeruginosa</i> , 10 ¹	<i>P. aeruginosa</i> , 10 ²	Да	Да	++	Да	++
3. Отрицательный контроль								
3.1	<i>S. nepalensis</i> , < 100	Не обнаружено роста ФАМ	Не обнаружено роста ФАМ	Нет	Нет	–	Нет	–
3.2	<i>S. nepalensis</i> , < 100	<i>S. nepalensis</i> , 10 ¹	<i>S. nepalensis</i> , 10 ³	Да	Да	+	Да	+
3.3	Не обнаружено роста ФАМ	Не обнаружено роста ФАМ	Не обнаружено роста ФАМ	Нет	Нет	–	Нет	–
3.4	Не удалось собрать мочу	Не обнаружено роста ФАМ	Не обнаружено роста ФАМ	Нет	Нет	–	Нет	–
3.5	Не обнаружено роста ФАМ	Не обнаружено роста ФАМ	Не обнаружено роста ФАМ	Нет	Нет	–	Нет	–
3.6	Не обнаружено роста ФАМ	Не обнаружено роста ФАМ	Не обнаружено роста ФАМ	Нет	Нет	–	Нет	–

обстоятельствами объясняется повышенный интерес к лечебным БФ [18].

По мнению многих специалистов, наилучшим вариантом являются препараты БФ, которые можно использовать как в комбинации с АМП, так и в качестве самостоятельного терапевтического средства [19, 20]. Активно развивается процесс разработки и промышленного производства новых лекар-

ственных форм БФ. Однако до настоящего времени использование БФ для разрушения бактериальных биоплёнок являлось недостаточно исследованной областью.

О том, что применение БФ для деструкции биоплёнок является перспективным направлением, свидетельствует возросший интерес к данному вопросу специалистов различного профиля [21]. В по-

следние годы пристальное внимание к данной проблеме подтверждается значительным увеличением числа научных публикаций [22, 23]. В то же время количество публикаций по данной тематике, в которых применяется электронно-микроскопическое исследование процесса разрушения бактериальных биоплёнок с помощью БФ с использованием метода СЭМ, ограничено.

В недавнем исследовании *in vitro* F. Zurabov и соавт. проводили электронно-микроскопический анализ биоплёнок *Klebsiella pneumoniae* методом СЭМ, добавляя в микробное сообщество микроорганизмов фаговый коктейль из 3 разновидностей чувствительных БФ, обладающих деполимеразной активностью [24]. По мнению авторов, применение данного коктейля БФ оказалось достаточно эффективным и приводило к ингибированию биоплёнок, однако полного лизиса бактериальных клеток в данном эксперименте обнаружить не удалось. Полученные результаты продемонстрировали способность исследуемого фагового коктейля, чувствительного к клеткам *K. pneumoniae*, эффективно разрушать экзополисахаридный матрикс биоплёнок, выполняющий защитную функцию в микробных сообществах.

По данным R.R. Pallavali и соавт., действие литических БФ, чувствительных против биоплёночных форм мультирезистентных штаммов *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae* и *S. aureus*, выделенных из ран у ожоговых пациентов, приводило к снижению биомассы и лизису бактериальных клеток [25]. Биомасса биоплёнок *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* и *E. coli* снижалась более чем на 50–80% в зависимости от времени воздействия БФ. Анализ методом СЭМ показал морфологические изменения в структуре биоплёнок, возникшие в результате лизиса, опосредованного БФ.

Также одним из перспективных направлений фаговой терапии в борьбе с биоплёночными формами бактерий является использование ферментов БФ — фаговых эндוליзинов и деполимераз.

Согласно данным W. Chen и соавт., полученным в результате электронно-микроскопических исследований методом СЭМ, применение гибридного белка на основе эндוליзинов клебсиеллезного БФ против патогенов группы ESKAPE приводило к изменению морфологии микроорганизмов в виде появления шероховатостей на поверхности бактерий, небольших отверстий в клеточной стенке и деформации клеток, вплоть до их полного лизиса [26].

Электронно-микроскопическое исследование этих же авторов, посвящённое анализу влияния фаговых эндOLIзинов на зрелые биоплёнки *Acinetobacter baumannii* и *Enterococcus faecalis*, показало, что воздействие данных ферментов в течение 24 ч приводило к практически полной деструкции биоплёнок.

В работе M. Shahed-Al-Mahmud и соавт. показана способность деполимеразы рекомбинантного спайкового белка БФ *A. baumannii* (ФАВ6) в течение 4 ч проявлять ферментативную активность и разрушать сформированные биоплёнки, разрушая белково-экзополисахаридный матрикс [27].

Помимо работ с описанием деструктивного воздействия БФ в отношении биоплёночных форм бактерий, ряд авторов посвящают исследования анализу применения БФ для профилактики формирования биоплёнок.

Примером является исследование W. Fu и соавт., в котором электронно-микроскопический анализ образцов показал, что предварительная обработка смесью БФ *P. aeruginosa* M4 *in vitro* в течение 2 ч при 37°C перед бактериальной инокуляцией препятствовала образованию биоплёнок [28]. Полученные данные подтверждены отсутствием на поверхности мочевых катетеров Фолея как микроколоний, так и одиночных клеток бактерий.

Ещё одно исследование, выполненное с помощью метода СЭМ, которое было проведено J.J. Curtin и соавт., подтверждает возможность предотвращения образования биоплёнок *S. epidermidis* на мочевых катетерах Фолея при предварительной обработке БФ в течение 24 ч *in vitro* [29].

Таким образом, в ряде исследований по применению БФ для борьбы с биоплёночными формами микроорганизмов — возбудителей ИСМП отмечались морфологические изменения структуры биоплёнок в виде деструктивных изменений межклеточного экзополисахаридного матрикса и изменения морфологии бактериальных клеток, входящих в состав биоплёнок, что проявлялось в изменении поверхности клеточной стенки, различной деформации клеток вплоть до их полного лизиса.

Полученные результаты проведённого нами исследования продемонстрировали деструктивное действие БФ против биоплёнок, которое проявлялось как на клеточном, так и на популяционном уровнях микробных сообществ микроорганизмов.

В настоящее время объём научных исследований, посвящённых моделированию КА-ИМП у лабораторных животных с последующей оценкой эффективности БФ, остаётся недостаточным, что обуславливает необходимость дальнейшего углублённого изучения данной проблемы [30].

F. Mehmood Khan и соавт. в обзоре, посвящённом применению фаготерапии в *in vivo* моделях на животных, представили различные пути введения БФ инфицированным мышам [31]. Однако среди перечисленных вариантов введения БФ отсутствовал трансуретральный путь.

A.N. Singh и соавт. оценивали эффективность воздействия фагового коктейля с различными путями введения и дозирования для борьбы с моде-

лированной ИМП у мышей, вызванной устойчивой к колистину *K. pneumoniae* [32]. Фаговый коктейль вводили мышам трансуретральным, ректальным, подкожным и пероральным путями после возникновения ИМП. Авторами было установлено, что более высокие концентрации фагов и трансуретральный, пероральный и ректальный пути введения являлись оптимальными. Для трансуретрального введения требовалось несколько доз, в то время как для перорального и ректального введения было необходимо около 6–9 повторных введений.

В отличие от этих исследований, M.S. Conover и соавт. моделировали не только ИМП, но и КА-ИМП у мышей. При экспериментальной модели КА-ИМП в мочевой пузырь вводили силиконизированную трубку RenaSIL с последующей инстилляцией бактериальной взвеси *E. faecalis*. В течение 1-х суток развивалась КА-ИМП, характеризующаяся активным прогрессированием инфекции, связанной с образованием биоплёнок *E. faecalis* на поверхности инвазивного устройства. В свою очередь, при использовании модели ИМП спустя 1 сут после возникновения инфекции авторами отмечено снижение концентрации возбудителя в моче с его последующей эрадикацией. Данный подход позволил более точно смоделировать клиническую ситуацию, при которой наличие мочевого катетера в мочевом пузыре способствует развитию устойчивой бактериальной инфекции, ассоциированной с биоплёночными формами микроорганизмов.

Результаты представленных работ разных авторов свидетельствуют о том, что, несмотря на растущий интерес к фаготерапии, исследований, посвящённых моделированию КА-ИМП и оценке эффективности БФ, недостаточно. Полученные данные подчёркивают необходимость дальнейших исследований, направленных на оптимизацию фаготерапии при КА-ИМП, в частности, изучение трансуретрального введения БФ. Это позволит разработать более эффективные стратегии борьбы с устойчивыми биоплёнко-ассоциированными инфекциями, что особенно актуально в условиях роста антибиотикорезистентности.

Современные исследования подтверждают перспективность применения БФ в борьбе с инфекциями, связанными с биоплёночными формами микроорганизмов, включая КА-ИМП. Экспериментальные данные демонстрируют их способность разрушать экзополисахаридный матрикс биоплёнок, вызывать лизис бактериальных клеток и предотвращать их формирование. Однако, несмотря на успехи *in vitro*, вопросы оптимальных способов введения (включая трансуретральный), дозирования и эффективности фагов в условиях *in vivo* требуют дальнейшего изучения.

Особую актуальность приобретает разработка комбинированных стратегий, сочетающих фаго-

терапию с другими антимикробными подходами. Углублённые исследования в этой области могут стать ключом к преодолению антибиотикорезистентности и созданию новых методов лечения хронических и рецидивирующих инфекций, в том числе ассоциированных с биоплёночными формами микроорганизмов, связанных с медицинскими устройствами.

Заключение

Методом СЭМ установлено, что моделированные биоплёнки *P. aeruginosa* и *E. coli*, сформированные на мочевых катетерах Фолея *in vitro*, подвергались деструкции литическими БФ с разрушением экзополисахаридного матрикса и ярко выраженным лизисом клеток.

Электронно-микроскопический анализ контрольных образцов мочевых катетеров Фолея, проведённый методом СЭМ, показал, что без обработки БФ через 24 ч на них формировались микробные сообщества в виде биоплёнок. При этом на поверхности мочевых катетеров выявлены физиологически активные и делящиеся клетки, объединённые в единую структуру. Через 48 ч на мочевых катетерах без обработки БФ наблюдали обильные скопления бактериальных клеток, образующих вместе с фрагментами межклеточного матрикса единую структуру биоплёнки.

Полученные нами данные в части исследования, посвящённого оценке эффективности применения БФ для деструкции биоплёнок *P. aeruginosa in vivo* на экспериментальной модели КА-ИМП у мышей, свидетельствуют о том, что БФ могут с успехом применяться для борьбы с КА-ИМП, ассоциированными с биоплёночными формами микроорганизмов и приводить к деструкции экзополисахаридного матрикса биоплёнок с лизисом клеток, входящих в состав биоплёнки.

Наглядно показана эффективность применения БФ для деструкции сформированных микробных биоплёнок на поверхности мочевых катетеров в экспериментальных моделях *in vitro* и *in vivo*.

При возникновении у пациентов КА-ИМП, связанных с биоплёночными формами микроорганизмов, и недопустимости удаления инвазивного устройства возможно рассмотрение вопроса о применении БФ способом промывания через мочевой катетер.

Результаты проведённых экспериментальных исследований продемонстрировали, что БФ могут быть эффективным средством для борьбы с ИСМП, вызванными микроорганизмами, формирующими биоплёнки.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Chinemerem Nwobodo D., Ugwu M.C., Oliseloke Anie C., et al. Antibiotic resistance: The challenges and some emerg-

- ing strategies for tackling a global menace. *J. Clin. Lab. Anal.* 2022;36(9):e24655. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcla.24655>
2. Assefa M., Amare A. Biofilm-associated multi-drug resistance in hospital-acquired infections: a review. *Infect. Drug. Resist.* 2022;15:5061–8. DOI: <https://doi.org/10.2147/IDR.S379502>
 3. Sharma S., Mohler J., Mahajan S.D., et al. Microbial biofilm: a review on formation, infection, antibiotic resistance, control measures, and innovative treatment. *Microorganisms.* 2023;11(6):1614. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061614>
 4. Shree P., Singh C.K., Sodhi K.K., et al. Biofilms: understanding the structure and contribution towards bacterial resistance in antibiotics. *Med. Microecol.* 2023;16(5):100084. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.medmic.2023.100084>
 5. Grooters K.E., Ku J.C., Richter D.M., et al. Strategies for combating antibiotic resistance in bacterial biofilms. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2024;14:1352273. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1352273>
 6. Конеv С.Д., Асланов Б.И., Ширай О.В. и др. Эпидемиологическая характеристика инфекций, вызванных биопленочными формами микроорганизмов, у пациентов с инвазивными медицинскими устройствами. *Инфекционные болезни.* 2025;23(2):53–60. Konev S.D., Aslanov B.I., Shirai O.V., et al. Epidemiological characterization of infections caused by biofilm-forming microorganisms in patients with invasive medical devices. *Infectious Diseases.* 2025;23(2):53–60. DOI: <https://doi.org/10.20953/1729-9225-2024-4-21-25> EDN: <https://elibrary.ru/lafcm5>
 7. Jamal M., Ahmad W., Andleeb S., et al. Bacterial biofilm and associated infections. *J. Chin. Med. Assoc.* 2018;81(1):7–11. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.07.012>
 8. Stewart P.S., Bjarnsholt T. Risk factors for chronic biofilm-related infection associated with implanted medical devices. *Clin. Microbiol. Infect.* 2020;26(8):1034–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.02.027>
 9. Muteeb G., Rehman M.T., Shahwan M., Aatif M. Origin of antibiotics and antibiotic resistance, and their impacts on drug development: a narrative review. *Pharmaceuticals (Basel).* 2023;16(11):1615. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph16111615>
 10. Gliźniewicz M., Miłek D., Olszewska P., et al. Advances in bacteriophage-mediated strategies for combating polymicrobial biofilms. *Front. Microbiol.* 2024;14:1320345. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1320345>
 11. Liu S., Lu H., Zhang S., et al. Phages against pathogenic bacterial biofilms and biofilm-based infections: a review. *Pharmaceutics.* 2022;14(2):427. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14020427>
 12. O'Toole G.A., Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis. *Mol. Microbiol.* 1998;28(3):449–61. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.00797.x>
 13. Конеv С.Д. Адаптированный метод выявления биопленок на инвазивных устройствах, применяемых в урологической практике. *Материалы конференции «Эйхвальдские чтения-2023».* СПб.;2023. Konev S.D. An adapted method for detecting biofilms on invasive devices used in urological practice. In: *Proceedings of the Conference «Eichwald Readings-2023».* St. Petersburg;2023. EDN: <https://elibrary.ru/czntnv>
 14. Conover M.S., Flores-Mireles A.L., Hibbing M.E., et al. Establishment and characterization of UTI and CAUTI in a mouse model. *J. Vis. Exp.* 2015;23(100):e52892. DOI: <https://doi.org/10.3791/52892>
 15. Асланов Б.И., Конеv С.Д., Куляш А.Г. и др. Метод быстрой идентификации биопленок на инвазивных устройствах, применяемых в урологической практике. В кн.: *Профилактическая медицина — 2022: сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием.* СПб.;2022:22–6. Aslanov B.I., Konev S.D., Kulyash A.G., et al. Method fast identification of biofilms on invasive devices used in urological practice. In: *Preventive Medicine — 2022: Collection of Scientific Papers of the All-Russian Scientific and Practical Conference with the Participation.* St. Petersburg; 2022:22–6. EDN: <https://elibrary.ru/zdwtqc>
 16. Dagnaes-Hansen F., Kilian M., Fuursted K. Septicaemia associated with an *Aerococcus viridans* infection in immunodeficient mice. *Lab. Anim.* 2004;38(3):321–5. DOI: <https://doi.org/10.1258/002367704323133718>
 17. Gryaznova M., Smirnova Y., Burakova I., et al. Effect of probiotic bacteria on the gut microbiome of mice with lipopolysaccharide-induced inflammation. *Microorganisms.* 2024;12(7):1341. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms12071341>
 18. Zalewska-Piątek B. Phage therapy — challenges, opportunities and future prospects. *Pharmaceuticals (Basel).* 2023;16(12):1638. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph16121638>
 19. Li X., He Y., Wang Z., et al. A combination therapy of phages and antibiotics: two is better than one. *Int. J. Biol. Sci.* 2021;17(13):3573–82. DOI: <https://doi.org/10.7150/ijbs.60551>
 20. Gomes Dallepiane F., Alejandro Coimbra Nogueira M., Menezes Dos Anjos L., et al. Bacteriophages as potential therapeutic agents in the control of bacterial infections. *EXCLI J.* 2025;24:524–6. DOI: <https://doi.org/10.17179/excli2025-8145>
 21. Tian F., Li J., Nazir A., et al. Bacteriophage — a promising alternative measure for bacterial biofilm control. *Infect. Drug Resist.* 2021;14:205–17. DOI: <https://doi.org/10.2147/IDR.S290093>
 22. Kovacs C.J., Rapp E.M., McKenzie S.M., et al. Disruption of biofilm by bacteriophages in clinically relevant settings. *Mil. Med.* 2024;189(5-6):e1294–302. DOI: <https://doi.org/10.1093/milmed/usad385>
 23. Mayorga-Ramos A., Carrera-Pacheco S.E., Barba-Ostria C., et al. Bacteriophage-mediated approaches for biofilm control. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2024;14:1428637. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1428637>
 24. Zurabov F., Glazunov E., Kochetova T., et al. Bacteriophages with depolymerase activity in the control of antibiotic resistant *Klebsiella pneumoniae* biofilms. *Sci. Rep.* 2023;13:15188. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-42505-3>
 25. Pallavali R.R., Degati V.L., Narala V.R., et al. Lytic bacteriophages against bacterial biofilms formed by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Staphylococcus aureus* isolated from burn wounds. *Phage (New Rochelle).* 2021;2(3):120–30. DOI: <https://doi.org/10.1089/phage.2021.0004>
 26. Chen W., Han L.M., Chen X.Z., et al. Engineered endolysin of *Klebsiella pneumoniae* phage is a potent and broad-spectrum bactericidal agent against "ESKAPEE" pathogens. *Front. Microbiol.* 2024;15:1397830. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1397830>
 27. Shahed-Al-Mahmud M., Roy R., Sugiokto F.G., et al. Phage φAB6-borne depolymerase combats *Acinetobacter baumannii* biofilm formation and infection. *Antibiotics (Basel).* 2021;10(3):279. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics10030279>
 28. Fu W., Forster T., Mayer O., et al. Bacteriophage cocktail for the prevention of biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* on catheters in an *in vitro* model system. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010;54(1):397–404. DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.00669-09>
 29. Curtin J.J., Donlan R.M. Using bacteriophages to reduce formation of catheter-associated biofilms by *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006;50(4):1268–75. DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.50.4.1268-1275.2006>
 30. Cieřlik M., Bagińska N., Górski A., et al. Animal models in the evaluation of the effectiveness of phage therapy for infections caused by gram-negative bacteria from the ESKAPE group and the reliability of its use in humans. *Microorganisms.* 2021;9(2):206. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020206>

31. Mehmood Khan F., Manohar P., Singh Gondil V., et al. The applications of animal models in phage therapy: an update. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2023;19(1):2175519.
DOI: <https://doi.org/10.1080/21645515.2023.2175519>

Информация об авторах

Асланов Батырбек Исмаилович — д-р мед. наук, профессор, директор Института профилактической медицины, зав. каф. эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия; в. н. с. отдела биотехнологии НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева, Санкт-Петербург, Россия, batyrbek.aslanov@szgmu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6890-8096>

Конева Сергей Дмитриевич — начальник отдела эпидемиологии Клиники высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия, sd-konev@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1919-4725>

Макарова Мария Александровна — д-р мед. наук, доцент, в. н. с., зав. лаб. кишечных инфекций Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия; профессор каф. медицинской микробиологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия, makmaria@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3600-2377>

Гаджиев Нариман Казиханович — д-р мед. наук, врач-уролог, заместитель главного врача по медицинской части (урология) Клиники высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия; профессор каф. урологии Медицинского института СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия, nariman.gadjiev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6255-0193>

Горгоцкий Иван Александрович — канд. мед. наук, врач-уролог, зам. главного врача по амбулаторно-поликлинической работе Клиники высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия; доцент каф. урологии Медицинского института СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия, igorgotsky@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8514-5510>

Куляш Алексей Геннадьевич — зав. лаб. молекулярно-генетических исследований Клиники высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия, kulyash_patolog@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9916-6232>

Рожкован Константин Васильевич — канд. биол. наук, биолог лаб. молекулярно-генетических исследований Клиники высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия, tomcat-27@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8403-8342>

Васютина Марина Львовна — н. с. НИЛ биопротезирования и кардиопротекции Института экспериментальной медицины Национального медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия, raluwow@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3295-8411>

Мурашова Лада Александровна — м. н. с. НИЛ нейрогенеза и нейродегенеративных заболеваний Национального медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия, barbosachka85@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7155-1078>

Лошаченко Антон Сергеевич — канд. физ.-мат. наук, директор Междисциплинарного ресурсного центра по направлению «Нанотехнологии» СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия, a.loshachenko@spbu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1058-3452>

Брюханова Вера Владимировна — инженер Междисциплинарного ресурсного центра по направлению «Нанотехнологии» СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия, verabryu@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9862-1387>

Рыбальченко Оксана Владимировна — д-р мед. наук, профессор каф. физиологии СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия, o.rybalchenko@spbu.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9758-0053>

Бондаренко Антон Сергеевич — канд. физ.-мат. наук, технический директор ООО «Научные технологии и сервис», Черноголовка, Россия, bond.anton@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7707-1710>

32. Singh A.N., Singh A., Nath G. Evaluation of bacteriophage cocktail on urinary tract infection caused by colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* in mice model. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 2024;39:41–53.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2024.07.019>

Information about the authors

Batyrbek I. Aslanov — Dr. Sci. (Med.), Professor, Director, Institute of Preventive Medicine, Head, Department of epidemiology, parasitology and disinfection, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia; leading researcher, Biotechnology department, Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russia; batyrbek.aslanov@szgmu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6890-8096>

Sergei D. Konev — Head, Epidemiology department, N.I. Pirogov Clinic of High Medical Technologies, Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia, sd-konev@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1919-4725>

Maria A. Makarova — Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, leading researcher, Head, Laboratory of intestinal infections, Saint Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia; Professor, Department of medical microbiology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia, makmaria@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3600-2377>

Nariman K. Gadzhiev — D. Sci. (Med.), urologist, deputy chief physician, Medical department (Urology), N.I. Pirogov Clinic of High Medical Technologies, St. Petersburg, Russia; Professor, Urology department, Medical Institute, Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia, nariman.gadjiev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6255-0193>

Ivan A. Gorgotsky — Cand. Sci. (Med.), urologist, deputy chief physician for outpatient clinical care, N.I. Pirogov Clinic of High Medical Technologies, St. Petersburg, Russia; Associate Professor, Urology department, Medical Institute, Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia, igorgotsky@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8514-5510>

Alexey G. Kulyash — Head, Laboratory of molecular genetic research, N.I. Pirogov Clinic of High Medical Technologies, Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia, kulyash_patolog@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9916-6232>

Konstantin V. Rozhkovan — Cand. Sci. (Biol.), biologist, Laboratory of molecular genetic research, N.I. Pirogov Clinic of High Medical Technologies, Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia, tomcat-27@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8403-8342>

Marina L. Vasyutina — researcher, Laboratory of bioprosthetics and cardioprotection, Institute of Experimental Medicine, Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia, raluwow@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3295-8411>

Lada A. Murashova — junior researcher, Research on neurogenesis and neurodegenerative diseases, Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia, barbosachka85@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7155-1078>

Anton S. Loshachenko — Cand. Sci. (Phys., Math.), Director, Interdisciplinary Resource Center for Nanotechnology, Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia, a.loshachenko@spbu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1058-3452>

Vera V. Bryukhanova — engineer, Interdisciplinary Resource Center for Nanotechnology, Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia, verabryu@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9862-1387>

Oksana V. Rybalchenko — Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of physiology, Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia, o.rybalchenko@spbu.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9758-0053>

Anton S. Bondarenko — Cand. Sci. (Phys., Math.), technical director, "Scientific Technologies and Service" LLC, Chernogolovka, Russia, bond.anton@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7707-1710>

Anastasia M. Konstantinova — Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Head, Department of pathology, N.I. Pirogov Clinic of High Medical Technologies, Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia, anastasia.konstantinova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2595-2249>

Константинова Анастасия Михайловна — д-р мед. наук, доцент, зав. патологоанатомическим отделением № 2, врач-патологоанатом Клиники высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия, anastasia.konstantynova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2595-2249>

Гальковский Борис Эдуардович — канд. мед. наук, врач-патологоанатом патолого-анатомического отделения № 2 Клиники высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия, mrc4se@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5252-483X>

Вклад авторов: *Асланов Б.И.* — методология и дизайн исследования, редактирование рукописи; *Конев С.Д.* — методология и дизайн исследования, организация и проведение экспериментов *in vitro* и *in vivo*, обработка материала, анализ полученных данных, написание и редактирование рукописи; *Макарова М.А.*, *Гаджиев Н.К.*, *Горгоцкий И.А.* — редактирование рукописи; *Куляш А.Г.*, *Рожкован К.В.* — проведение экспериментальной модели *in vitro* и интерпретация полученных данных; *Васютина М.В.*, *Мурашова Л.А.* — проведение экспериментальной модели *in vivo* и интерпретация полученных данных; *Лощаченко А.С.*, *Брюханова В.В.*, *Бондаренко А.С.* — проведение сканирующей электронной микроскопии; *Рыбальченко О.В.* — консультирование и помощь в описании полученных СЭМ изображений; *Константинова А.М.*, *Гальковский Б.Э.* — проведение морфологического исследования с интерпретацией и описанием полученных результатов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям Международного комитета редакторов медицинских журналов, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 06.10.2025;
принята к публикации 10.12.2025;
опубликована 28.12.2025

Boris E. Galkovsky — Cand. Sci. (Med.), pathologist, Department of pathology, N.I. Pirogov Clinic of High Medical Technologies, Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia, mrc4se@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5252-483X>

Author contribution: *Aslanov B.I.* — methodology and design of the study, editing of the manuscript; *Konev S.D.* — methodology and design of the study, organization and conduct of experiments *in vitro* and *in vivo*, processing of material, analysis of obtained data, writing and editing of the manuscript; *Makarova M.A.*, *Gadzhiev N.K.*, *Gorgotsky I.A.* — editing the manuscript; *Kulyash A.G.*, *Rozhkovan K.V.* — conducting an experimental model *in vitro* and interpreting the obtained data; *Vasyutina M.L.*, *Murashova L.A.* — conducting an experimental model *in vivo* and interpreting the obtained data; *Loshachenko A.S.*, *Bryukhanova V.V.*, *Bondarenko A.S.* — conducting scanning electron microscopy; *Rybalchenko O.V.* — consulting and assistance in the description of the received SEM images; *Konstantinova A.M.*, *Galkovsky B.E.* — conducting a morphological study with interpretation and description of the results obtained. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the article, acquisition, analysis, interpretation of data for the article, drafting and revising the article, final approval of the version to be published.

The article was submitted 06.10.2025;
accepted for publication 10.12.2025;
published 28.12.2025