

© Чуб О. І., Більченко О. В., Тесленко С. В., 2017

УДК: 616.61 – 002.3 – 085.33 + 615.015.8

О.І. ЧУБ, О.В. БІЛЬЧЕНКО, С.В. ТЕСЛЕНКО

**РІВНІ АНТИБАКТЕРІАЛЬНОЇ ЧУТЛИВОСТІ/РЕЗИСТЕНТНОСТІ ЗБУДНИКІВ ХРОНІЧНОГО ПІЄЛОНЕФРИТУ ЗАЛЕЖНО ВІД ЕКСПРЕСІЇ РІЗНИХ ТИПІВ ПЛАЗМІДНИХ ГЕНІВ РЕЗИСТЕНТНОСТІ**

O.I. CHUB, O.V. BILCHENKO, S.V. TESLENKO

**BACTERIAL SUSCEPTIBILITY-RESISTANCE LEVELS OF CHRONIC PYELONEPHRITIS PATHOGENS', DEPENDING ON EXPRESSION OF DIFFERENT TYPES OF PLASMID-MEDIATED RESISTANCE GENES**

Харківська медична академія післядипломної освіти

Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education

**Ключові слова:** хронічний пієлонефрит, антибактеріальні препарати, резистентність, чутливість, плазмідни, гени.**Keywords:** chronic pyelonephritis, antibiotics, resistance, susceptibility, plasmids, genes.**Резюме.** *Цель работы:* изучить уровни антибактериальной чувствительности-резистентности основных возбудителей хронического пиелонефрита (ХП) в зависимости от экспрессии разных типов плазмидных генов резистентности.*Материалы и методы.* Обследовано 105 пациентов ХП. Определение чувствительности-резистентности к антибактериальным препаратам (АБП) проводили согласно действующим протоколам. Исследование плазмид-индуцированных генов резистентности проводили методом полимеразной цепной реакции.*Результаты.* Были установлены достоверные взаимосвязи резистентности *in vitro* к аминопенициллинам, цефалоспорином и фторхинолонам с наличием в уропатогенных штаммах плазмидных β-лактамаз расширенного спектра (βЛРС) типов *blaCTX-M*, *blaTEM*, *blaSHV* и генов резистентности к фторхинолонам - *QnrA*, *AAC (6')-Ib-cr*, *QepA*. Резистентность к аминогликозидам достоверно связана с выявлением генов *blaCTX-M*, *QnrA* и *QepA*.*Заключение.* Установлены достоверные взаимосвязи чувствительности /резистентности *in vitro* к антибиотикам с наличием плазмид-индуцированных генных механизмов резистентности. Определены наиболее эффективные АБП против резистентных штаммов с экспрессией разных типов плазмидных генов резистентности. Разработан алгоритм диагностики плазмид-индуцированных генов резистентности у больных хроническим пиелонефритом.**Summary.** *The aim of the study is to determine the bacterial susceptibility-resistance levels of uropathogens depending on expression of different types of plasmid-mediated resistance genes.**Methods.* A cross-sectional study of 105 patients with chronic pyelonephritis was carried. Screening for the presence of plasmid-mediated genes was performed by polymerase chain reaction. The antimicrobial susceptibility of isolates was determined by the Kirby Bauer disk diffusion method on Mueller–Hinton agar-containing plates. The size of zone around each antimicrobial disk was interpreted as sensitive, intermediate or resistant.*Results.* We demonstrated *in vitro* significant relationship of the resistance to aminopenicillins, cephalosporins and fluoroquinolones with an appearance of plasmid-mediated extended spectrum β-lactamases (ESBLs) types *blaCTX-M*, *blaTEM*, *blaSHV* and fluoroquinolones resistant genes (PMQR), including *QnrA*, *AAC (6') - Ib-cr*, *QepA* in bacterial uropathogens. We also demonstrated *in vitro* significant relationship of the resistance to aminoglycosides with an appearance of plasmid-mediated genes *blaCTX-M*, *QnrA* and *QepA*.*Conclusion.* Were established *in vitro* significant relationships of the resistance to antimicrobials with an appearance of plasmid-mediated resistance genes in uropathogens. Were determined the most effective antibiotics against ESBL and PMQR producers. We have established the algorithm of diagnostic of plasmid-mediated resistance genes in uropathogens, isolated from patients with chronic pyelonephritis.

ВСТУП. Інфекції сечової системи (ІСС) є найбільш поширеною групою інфекційних захворювань,

поступаючись лише респіраторним інфекціям [4, 7]. Хронічний пієлонефрит (ХП) серед усіх нозологій ІСС виявляється до 90% випадків. В Україні, згідно даних Національного реєстру хворих на хронічну хворобу нирок (ХХН), ХП посідає перше місце (67,3%) серед причин ХХН за 2013 рік [2]. У США, на частку ІСС припадає понад 100,000 госпіталізацій щорічно, частіше за все з приводу пієлонефриту (ПН) [11].

**Чуб Ольга Ігорівна**  
**o.chub.post@gmail.com**

Препаратами емпіричної АБТ є β-лактамі антибіотики та фторхінолони. Зростаюча резистентність уропатогенних штамів до цих препаратів лімітує терапевтичні можливості. В останні роки збільшується резистентність, що пов'язана з трансфером генів стійкості між бактеріями за допомогою плазмід. Плазмиди одночасно можуть переносити до 10 генів стійкості, що призводить до формування мульти-резистентності (МР). До плазмід-індукованих механізмів резистентності до β-лактамічних антибіотиків відносяться β-лактамази розширеного спектру дії (βЛРС). Основними генами, що відповідають за резистентність до фторхінолонів, є протеїни QnrA, еффлюкс насос QerA та аміноглікозид-ацетилтрансфераза AAC(6')-Ib-cr [3,5,8,9]. Згідно даних Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) за 2014 рік, поширеність плазмідних генів резистентності в деяких країнах досягає 50% [10]. Проте, незважаючи на велику розповсюдженість, та кількість досліджень, мало вивченими залишаються взаємозв'язки між чутливістю/резистентністю *in vitro* до АБП з наявністю плазмід-індукованих механізмів резистентності серед збудників ХП, встановлення яких з одного боку дозволить визначити необхідність дослідження експресії плазмідних генів стійкості у бактерій з резистентністю до АБП *in vitro*, а з іншого – встановити найбільш ефективні препарати проти резистентних мікроорганізмів та підвищити ефективність емпіричної АБТ.

**МЕТОЮ** нашого дослідження було вивчення рівнів антибактеріальної чутливості-резистентнос-

ті основних збудників хронічного пієлонефриту в залежності від експресії різних типів плазмідних генів стійкості та встановлення найбільш ефективних АБП проти резистентних бактерій.

**МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.** Було обстежено 105 хворих на ХП: 91 (86,7%) жінка і 14 (13,3%) чоловіків, середній вік склав  $56,9 \pm 1,7$  років. Верифікація діагнозу ХП проводилася згідно діючих клінічних рекомендацій [4]. Серед обстежених, у 21 (20%) хворих на ХП було діагностовано I стадію ХХН, у 28 (26,7%) – II стадію, III стадію ХХН мали 27 (25,7%) пацієнтів, IV – 29 (27,6%) осіб. Стадію ХХН визначали по рівню швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) за формулою СКД-ЕРІ (KDIGO 2012) [6]. Визначення чутливості-резистентності до антибактеріальних препаратів (АБП) проводили згідно з чинними протоколами [1]. Дослідження плазмід-індукованих механізмів резистентності проводили методом полімеразної ланцюжкової реакції (ПЛР). Вивчали експресію найбільш поширених генів: βЛРС типів blaTEM, blaSHV, blaCTX-M; генів резистентності до фторхінолонів – протеїни QnrA, еффлюкс насос QerA та аміноглікозид-ацетилтрансфераза AAC(6')-Ib-cr [13].

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** За результатами бактеріологічного дослідження сечі було виділено 120 патогенних збудників: 81 штамп (67,5%) Грам-негативної флори, 34 (28,3%) – Грампозитивні бактерії та 5 (4,2%) бактерій грибової флори. Серед Г- бактерій домінуючим збудником виявилася *E.coli* (44%), серед Г+ флори – сімейство *Enterococcus spp* (14%) (рис. 1).

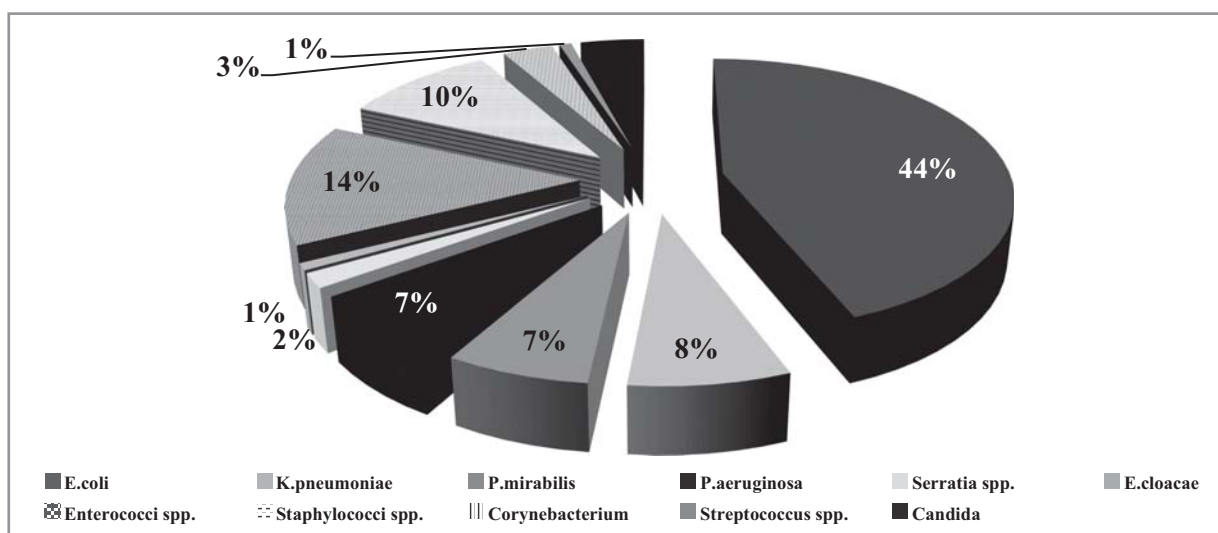


Рис. 1. Виділені збудники у хворих на хронічний пієлонефрит.

Серед 115 виділених штамів (Г- та Г+ бактерії), 30 (26,1%) були продуцентами βЛРС. Максимум генів β-лактамаз виділено у *P.mirabilis* - 4 (50%), виявлення βЛРС в штаммах *E.coli* склала 37,7%, *K.pneumoniae* – 22,2%. Серед Грам-позитивної

флори, гени антибіотико-резистентності виявлені у 13,3% виділених бактерій. Найпоширенішими βЛРС були гени blaTEM і blaCTX-M з частотою виявлення 33,3% та 36,6% відповідно (табл. 1).

Таблиця 1

## Плазмідні βЛРС серед збудників ХП

Збудники	Загальна кількість n (%)	ESBLs гени n (%)		
		blaCTX-M	blaTEM	blaSHV
<i>E. coli</i>	20 (37.7)	6 (30)	10 (50)	4 (20)
<i>K.pneumoniae</i>	2 (22.2)	2 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>P.mirabilis</i>	4 (50)	1 (25)	1 (25)	2 (50)
<i>Staphylococcus spp.</i>	1 (8.3)	1 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>Enterococcus spp.</i>	2 (11.8)	1 (50)	0 (0.0)	1 (50)
<i>Corynebacterium</i>	1 (25)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100)

Частка плазмідних генів резистентності до фторхінолонів серед збудників ХП склала 12,2% (14/115). Найбільше генів резистентності було виявлено в штаммах *P.aeruginosa* (50%), *E.coli* (15,1%) та *P.mirabilis* (12,5%). Серед Грам+ флори, питома

вага генів стійкості склала 11,8%. Найпоширенішими генами були виявлені efflux pump QepA та протеїн QnrA з частотою виявлення 42,8% та 35,7% відповідно (табл. 2).

Таблиця 2

## Частка плазмідних генів резистентності до фторхінолонів серед збудників ХП

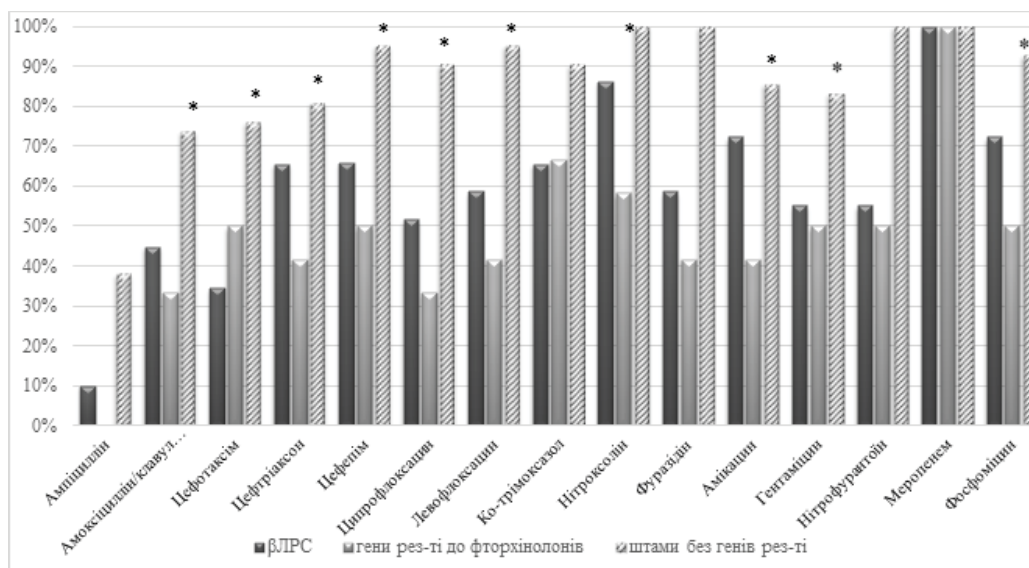
Збудники	Загальна кількість n (%)	гени резистентності до фторхінолонів n (%)		
		QnrA	AAC(6')-Ib-cr	QepA
<i>E. coli</i>	8 (15.1)	2 (25)	2 (25)	4 (50)
<i>K.pneumoniae</i>	1 (11.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100)
<i>P.mirabilis</i>	1 (12.5)	0 (0.0)	1 (100)	0 (0.0)
<i>P.aeruginosa</i>	2 (50)	2 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>Enterococcus spp.</i>	2 (11.8)	1 (50)	0 (0.0)	1 (50)

Була проаналізована чутливість виділених збудників до 15 антибактеріальних препаратів. Встановлено, що найбільшу інгібуючу активність проти уропатогенних штамів *in vitro* проявляють: меропенем (94,7%), нітроксолін (80,8%), фосфоміцин (72,2%), амікацин (64,3%), цефіпім (60%) та левофлоксацин (59,1%). Найвищі рівні резистентності були виявлені до ампіциліну (72,2%), амоксицилін/клавуланату (57,4%), ципрофлоксацину (46,9%), гентаміцину (43,5%), цефотаксіму (41,7%). При аналізі взаємозв'язків *in vitro* з експресією плазмід-індукованих генів резистентності, встановлено найбільші рівні резистентності серед βЛРС-продукуючих штамів до ампіциліну (75,9%), ципрофлоксацину (48,3%), 3-ї генерації цефалоспоринов (45%), левофлоксацину (41,4%), та гентаміцину (41,4%).

Найвищі рівні резистентності серед штамів з експресією генів резистентності до фторхінолонів, були визначені до ампіциліну (100%), амоксицилін/клавуланату (66,7%), ципрофлоксацину (66,7%), левофлоксацину (58,3%), цефтріаксону (58,3%), амікацину. Найбільшу інгібуючу активність проти штамів з експресією генів резистентності проявили меропенем, нітроксолін, фосфоміцин. Рівні резистентності уропатогенів без ви-

явлених плазмід-індукованих механізмів резистентності у порівнянні з штамми, що мають гени стійкості, були достовірно вищі (рис. 2).

Була проаналізована чутливість виділених збудників ХП до АБП в залежності від типів виявлених βЛРС: blaCTX-M, blaTEM, blaSHV. Встановлено, що найбільшу інгібуючу активність проти бактерій з геном blaCTX-M проявляють меропенем (100%), фосфоміцин (100%), нітроксолін (70%) та ко-тримоксазол (60%). Найвищі рівні резистентності було отримано до ампіциліну (80%), амоксицилін/клавуланату (80%), фторхінолонам (70%), цефалоспорином (60%) та аміноглікозидам (60%). Щодо рівнів резистентності бактерій з геном blaTEM встановлено найвищі рівні до ампіциліну (100%), амоксицилін/клавуланату (50%) та цефотаксіму (50%). Найбільшу інгібуючу активність проявили: амікацин (100%), фосфоміцин (100%), нітроксолін (100%), меропенем (100%), цефіпім (83%) та гентаміцин (83%). Бактерії з виділеним геном blaSHV мали наступні рівні резистентності: ампіцилін (100%), амоксицилін/клавуланат (86%), фуразідін (71%), цефотаксім (57%), фторхінолони (57%). Рівні чутливості становили: меропенем (86%), амікацин (86%), нітроксолін (71%), цефтріаксон (71%), фосфоміцин (57%) (рис. 3).



\*p<0,05

Рис. 2. Чутливість in vitro до АБП виділених уропатогенних штамів залежно від експресії плазмід-індукованих генів резистентності.

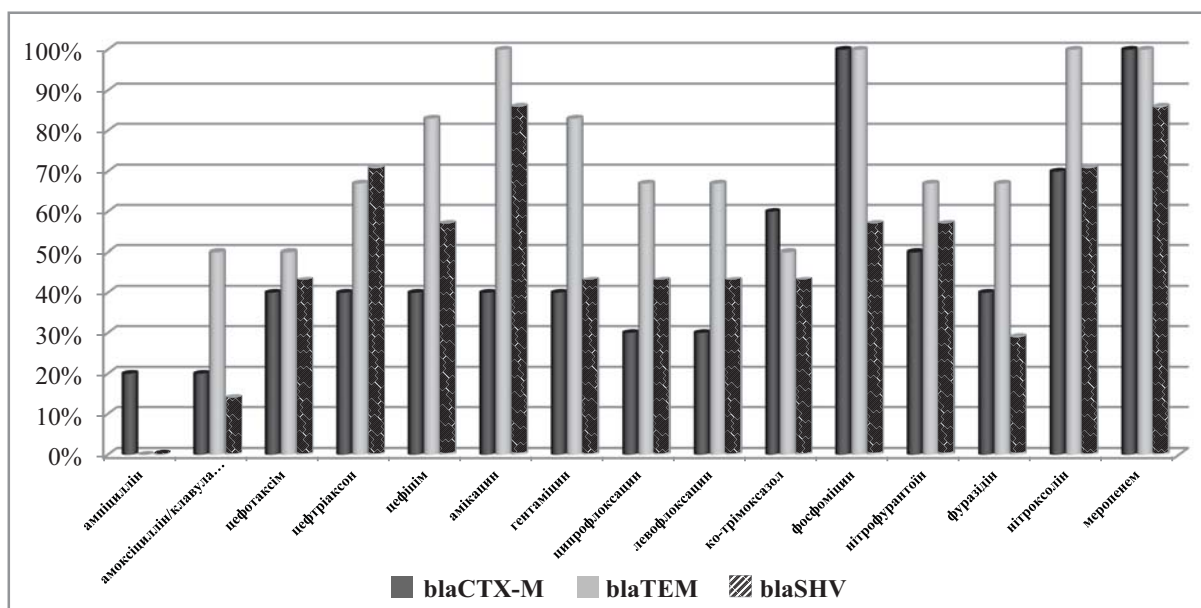


Рис. 3. Чутливість виділених збудників ХП залежно від типу виявлених βЛРС.

Була проаналізована чутливість виділених збудників ХП до АБП в залежності від типів виділених генів резистентності до фторхінолонів: QnrA, QerA та AAC(6)-Ib-cr. Найвищі рівні резистентності серед бактерій з геном QnrA були виявлені до ампіциліну (100%), амоксицилін/клавуланату (100%), фосфоміцину (100%), нітрофурантоїну (100%), нітроксоліну (100%), цефалоспорином (80%), фторхінолонам (80%), аміноглікозидам (80%). Тільки меропенем проявив 100% інгібуючу активність проти бактерій з геном QnrA. Щодо рівнів резистентності серед бактерій з геном QerA,

встановлено найвищі рівні до ампіциліну (100%), амоксицилін/клавуланату (60%) та амікацину (60%). Найбільшу інгібуючу активність проявили меропенем (100%), нітроксолін (100%), фуразідін (100%), нітрофурантоїн (100%), ко-тримоксазол (100%) та фосфоміцин (80%). Рівні резистентності серед бактерії з геном AAC(6)-Ib-cr були наступними: ампіцилін (100%), ципрофлоксацин (100%), фуразідін (100%), цефтріаксон (67%), левофлоксацин (67%). Рівні чутливості становили: меропенем (100%), фосфоміцин (67%), ко-тримоксазол (67%), аміноглікозиди (67%) (рис. 4).

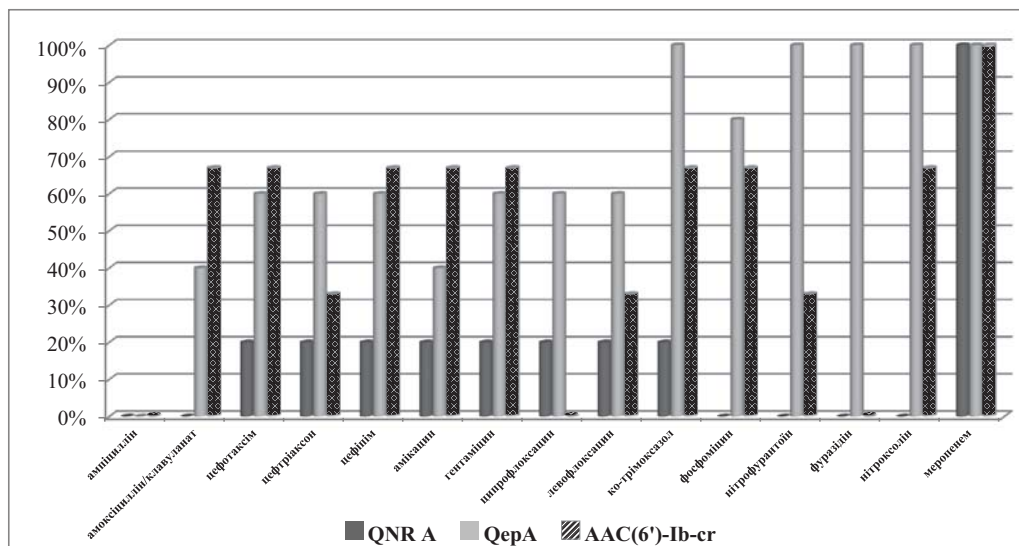


Рис. 4. Чутливість виділених збудників ХП залежно від типу плазмідних генів резистентності до фторхінолонів.

Отже, резистентність *in vitro* до амінопеніцилінів, цефалоспоринів та фторхінолонів достовірно пов'язана з наявністю в уропатогенних штаммах плазмідних ЛРС типів blaCTX-M, blaTEM, blaSHV. Резистентність до аміноглікозидів була достовірно пов'язана з виявленням blaCTX-M. Найбільшу інгібуючу активність проти ЛРС-продукуючих мікроорганізмів проявили меропенем, фосфоміцин, нітроксолін. Також високу активність проти штамів з геном blaCTX-M проявили ко-тримоксазол; проти штамів з геном blaTEM – амікацин, цефіпім та гентаміцин; проти штамів з геном blaSHV – амікацин та цефтріаксон.

Резистентність *in vitro* до амінопеніцилінів, фторхінолонів та аміноглікозидів достовірно взаємопов'язана з наявністю в штаммах плазмідних генів резистентності до фторхінолонів. Крім того, виявлена перехресна резистентність до цефалоспоринів, достовірно пов'язана з генами QnrA та AAC(6')-Ib-cr. Найбільшу інгібуючу ак-

тивність проти штамів з генами стійкості до фторхінолонів проявили меропенем, фосфоміцин, ко-тримоксазол. Також високу чутливість проти штамів з геном QepA проявили нітроксолін, фурамаг, нітрофурантоїн; проти штамів з геном AAC(6')-Ib-cr – аміноглікозиди.

Фактори, що достовірно пов'язані з виявленням плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП: вік старше 55 років (OR 3,05), артеріальна гіпертензія (OR 2,57), ХХН III ст. (OR 2,03), факт стаціонарного лікування у поточному році (OR 2,02), тривалість хронічного піелонефриту більше 10 років (OR 1,97), прийом антибіотиків упродовж останнього року з різних причин (OR 1,41) та ХХН IV стадії (OR 1,1) [5]. Таким чином, враховуючи результати аналізу факторів та дані чутливості /резистентності *in vitro* до АБП, був розроблений алгоритм діагностики плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП (рис. 5).

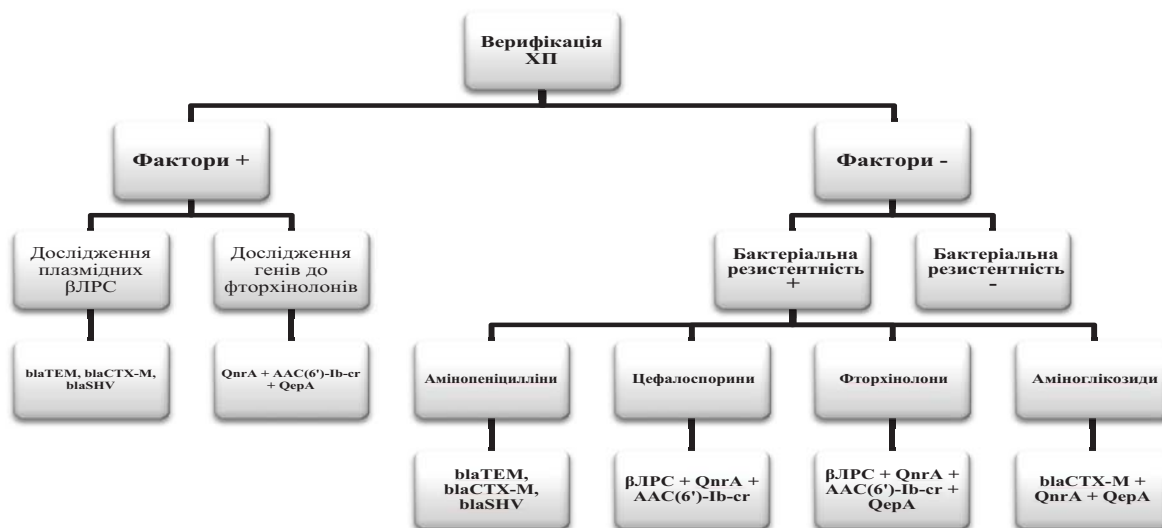


Рис. 5 Алгоритм діагностики плазмід-індукованих генів резистентності у хворих на ХП.

**ОБГОВОРЕННЯ.** В нашому дослідженні підтверджені взаємозв'язки між резистентністю *in vitro* до АБП з експресією плазмід-індукованих генів антибіотико-резистентності серед збудників ХП. Згідно опублікованих міжнародних звітів по вивченню та контролю за АБР, поширеність останньої щорічно зростає переважно за рахунок плазмідних генів. Так, Європейська організація EARS-Net звітує о 85-100% наявності плазмідних βЛРС серед клінічних штамів *E. coli* та *K. pneumoniae*, резистентних до 3-ї генерації цефалоспоринов [9]. Згідно даних ВООЗ, поширеність плазмідних βЛРС в деяких країнах досягла 50% станом на 2014 рік [10]. В нашому дослідженні, резистентність *in vitro* до амінопеніцилінів, цефалоспоринов та фторхінолонів була достовірно пов'язана з наявністю в уропатогенних штамів плазмідних βЛРС типів blaCTX-M, blaTEM, blaSHV.

В дослідженні ARES (Antimicrobial Resistance Epidemiological Survey on Cystitis), проведеному в 9 європейських країнах та Бразилії, було показано, що рівень резистентності *Escherichia coli* до фторхінолонів в Бразилії, Іспанії, Італії та Росії становить не менше 10%, у Польщі 6,7%, у Франції 1,7%. У Великобританії, протягом 13 років, відзначено зростання резистентності до фторхінолонів у штамів сімейства *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli* і *Klebsiella pneumoniae*), який збільшувався від <2% в 1996 до > 20% в 2009 році [12]. Аналогічна тенденція відзначена в США, де рівні резистентності до фторхінолонів в штамів, виділених від амбулаторних пацієнтів з ІСС, збільшилися від 3% у 2000 році до 17,1% в 2010 році [14]. В нашому дослідженні, резистентність *in vitro* до амінопеніцилінів, фторхінолонів та аміноглікозидів була достовірно взаємопов'язана з експресією в уропатогенних штамів плазмідних генів резистентності до фторхінолонів.

#### ВИСНОВКИ:

- 1) резистентність *in vitro* до амінопеніцилінів, цефалоспоринов та фторхінолонів пов'язана з наявністю в уропатогенних штамів плазмідних βЛРС типів blaCTX-M, blaTEM, blaSHV та генів резистентності до фторхінолонів – QnrA, AAC(6')-Ib-cr, QerA. Резистентність до аміноглікозидів достовірно пов'язана з виявленням генів blaCTX-M, QnrA та QerA;
- 2) найбільшу інгібуючу активність проти штамів з експресією плазмідних βЛРС проявляють меропенем, фосфоміцин, нітроксолін. Також високу активність проти штамів з геном blaCTX-M проявили ко-тримоксазол; проти штамів з геном blaTEM – амікацин, цефепім та гентаміцин; проти штамів з геном blaSHV – амікацин та цефтріаксон;
- 3) найбільшу інгібуючу активність проти штамів з експресією плазмідних генів стійкості до фторхінолонів проявляють меропенем,

фосфоміцин, ко-тримоксазол. Також високу чутливість проти штамів з геном QerA проявили нітроксолін, фурамаг, нітрофурантоїн; проти штамів з геном AAC(6')-Ib-cr – аміноглікозиди.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів: Наказ. – [Чинний від 2007-04-05]. – К.: МОЗ України, 2007. – 78 с. – (Нормативний документ МОЗ України. Вказівки, Наказ).
2. Козлюк Н. І. Національний реєстр хворих на хронічну хворобу нирок: 2013 рік / Н. І. Козлюк [та ін.]; Академія медичних наук України, Міністерство охорони здоров'я України, Державна установа «Інститут нефрології АМН України»; гол. ред. М. О. Колесник. – К., 2015. – 202 с.
3. Колесник М.О. Етіологічний спектр та десятирічний патерн антибактеріальної резистентності збудників інфекції сечової системи / М.О. Колесник, Н.М. Степанова, В.Т. Кругліков // Український журнал нефрології та діалізу. – 2016. - №1(49). – С. 32-41.
4. Колесник М.О. Адаптована клінічна настанова з кращої практики діагностики, лікування та профілактики інфекцій сечової системи / М.О. Колесник, Н.М. Степанова, Л.О. Лебідь та ін. // Український журнал нефрології та діалізу. – 2012. – №2(34). – С.53-77.
5. Чуб О.І. Стан плазмід-індукованої антибіотикорезистентності серед збудників хронічного пієлонефриту: поширеність генів та основні фактори ризику виявлення / О.І. Чуб, О.В. Більченко // Український журнал нефрології та діалізу. – 2016. – №2(50). – С.52-55.
6. Adeera Levin, Paul E Stevens, Garabed Eknoyan, Norbert Lameire, Bertram L Kasiske [et al.] / KDIGO CLINICAL PRACTICE GUIDELINE FOR EVALUATION AND MANAGEMENT OF CKD // KDIGO Public Review Draft 2012.
7. Ana L. Flores-Mireles. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options / Ana L. Flores-Mireles, Jennifer N. Walker, Michael Caparon, Scott J. Hultgren // Nature Reviews Microbiology – 2015. – V. – 13. – P. 269-284.
8. Calhau V. Interplay between pathogenicity island carriage, resistance profile and plasmid acquisition in uropathogenic *Escherichia coli* / V. Calhau, S. Domingues, G. Ribeiro [et al.] // J Med Microbiol. – 2015. - №64(8). – P. 828-835.
9. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2012. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2013.

10. *Hellen Gelband*. The state of the world's antibiotics 2015 / H. Gelband, M. Miller-Petrie, S. Pant [et al.] // Annual Report of World Health Organization. – 2015. – p. 79.
11. *M. Grabe*. Guidelines on Urological Infections // M. Grabe (Chairman), M. C. Bishop, T. E. Bjerklund-Johansen [et al.] // European Association of Urology. – 2015.
12. *Schito G. C.* The ARESC study: an international survey on the antimicrobial resistance of pathogens involved in uncomplicated urinary tract infections / Schito G. C., Naber K. G., Botto H., Palou J. // Int J Antimicrob Agents. – 2009. – V. 34. – P. 407-413.
13. *Sundsford A.* Genetic methods for detection of antimicrobial resistance / A. Sundsfjord // DAHLAPMIS. – 2005. - №12. – P. 815–837.
14. *Talan D. A.* Fluoroquinolone Resistant and Extended Spectrum Lactamase Producing Escherichia coli Infections in Patients with Pyelonephritis, United States / Talan D. A., Takhar S. S., Krishnadasan A., Abrahamian F. M., Mower W. R. // Emerg Infect Dis. – 2016. – V. 22(9) – P. 1594–1603.

Надійшла до редакції 22.05.2017

Прийнята до друку 01.06.2017