

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 62



11-12'2017

Научно-практический журнал

Учредители:

Министерство здравоохранения
Российской Федерации

Государственный научный
центр по антибиотикам

«Антибиотики и химиотерапия» —
ежемесячный научно-практический
журнал
Основан в 1956 году

«Antibiotics and Chemotherapy»
Issued 12 times a year
Since 1956

АДРЕС РЕДАКЦИИ:

117105 Москва, Нагатинская ул., д. 3а.
ГНЦА
Тел.: 8-499-611-20-77
Факс: 8-499-611-42-38
E-mail: journalgnca@yandex.ru
Зав. редакцией Л. Б. Смирнова
Корректор: А. Н. Лобусева
Сайт: www.jantchem.ru

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ:

Тел.: 8-499-611-20-77
Факс: 8-499-611-42-38
E-mail: gncajournal@yandex.ru
Л. И. Гусак

ИЗДАТЕЛЬ:

Издательство «ОКИ»



Подписка по каталогу Роспечать:

- индекс **71404** — для индивидуальных подписчиков
- индекс **71405** — для предприятий и организаций

Подписка через объединённый каталог
«Пресса России»:

- индекс **10659** — для индивидуальных подписчиков
- индекс **10660** — для предприятий и организаций

Журнал зарегистрирован
в Комитете РФ по печати
Рег. свид. № 0110694 от 25 мая 1993 г.

Установочный тираж 5000 экз.

© ГНЦА 2017

Типография:

ООО «Литера»

Дата выхода: 2017

Свободная цена

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPY

Том 62

11—12'2017

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
MONTHLY JOURNAL

Главный редактор
профессор, д. м. н. Сидоренко С. В.

Зам. главного редактора — к. м. н. Буданов С. В.

Отв. секретарь — к. м. н. Гучев И. А.

Отв. за выпуск — Белоусов Д. Ю.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Проф., д. м. н. Белобородов В. А.
Проф. Говорун В. М.
Проф. Гомберг М. А.
Д. б. н. Даниленко В. Н.
Проф. Климко Н. Н.
Акад. РАМН, проф., д. м. н. Лобзин Ю. В.
Проф., д. м. н. Никитин А. В.
Проф., д. х. н. Преображенская М. Н.
Проф. Руднов В. А.
Проф. Тишков В. Н.
Проф., д. б. н. Фирсов А. А.
Проф., д. м. н. Хрянин А. А.
Проф., д. м. н. Яковлев С. В.
Проф. Яроцкий С. В.

Научные редакторы

к.м.н. Кузнецова С. М.
к.б.н. Белявская И. В.

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Беседнова Н. Н.	Клясова Г. А.
Бибикова М. В.	Ленёва И. А.
Васильев А. Н.	Митрохин С. Д.
Волжанин В. М.	Романцов М. Г.
Дмитриева Н. В.	Сычев Д. А.
Долгова Г. В.	Тец В. В.
Захарова Ю. А.	Цыбанев А. А.
Зуева Л. П.	Ших Е. В.
Ильина Е. Н.	

**Журнал* цитируется в: Medline; Ind Chem;
Index Medicus; Ind Sci Rev; Curr Biothech Abstr;
Current Contents (Life Sciences)**

**Cited in: Medline; Ind Chem; Index Medicus;
Ind Sci Rev; Curr Biothech Abstr;
Current Contents (Life Sciences)**

Оригинальные статьи

Original Papers

Куликова Н. Г., Терехова Л. П.
Индукция антибиотикообразования при глубинном
культивировании штаммов редких родов актиномицетов

3 Kulikova N. G., Terekhova L. P.
Induction of Antibiotic Formation of Strains
of Rare Actinomycetes in Depth Cultivation

Габриэлян Н. И., Драбкина И. В., Крупенио Т. В.,
Демьянкова М. В., Маланicheva И. А., Васильева Б. Ф.,
Ефименко Т. А., Сумарукова И. Г., Глухова А. А.,
Бойкова Ю. В., Малкина Н. Д., Удалова В. В.,
Алферова В. А., Коришун В. А., Ефременкова О. В.
Антимикотическая активность штамма
Bacillus subtilis 534 — основы лекарственного препарата
пробиотика споробактерина

7 Gabrielyan N. I., Drabkina I. V., Krupenio T. B.,
Demyankova M. V., Malanicheva I. A., Vasilieva B. F.,
Efimenko T. A., Sumarukova I. G., Glukhova A. A.,
Boykova Yu. V., Malkina N. D., Udalova V. V.,
Alferova V. A., Korshun V. A., Efremenkova O. V.
Antimycotic Activity of the *Bacillus subtilis* 534 Strain —
Foundations of Probiotic Sporobacterin

Кузнецова М. В., Паршаков А. А.,
Афанасьевская Е. В., Самарцев В. А.
Ингибирование адгезии бактерий *Staphylococcus*
на сетчатых имплантатах в комбинации
с биоцидами (*in vitro*)

12 Kuznetsova M. V., Parshakov A. A.,
Afanasyevskaya E. V., Samartsev V. A.
Inhibition of Adhesion of *Staphylococcus* Bacteria
on Mesh Implants in Combination
with Biocides (*in vitro*)

Фалынскова И. Н., Ленёва И. А., Макарова О. В.,
Махмудова Н. Р., Глубокова Е. А., Карташова Н. П.,
Мхитаров В. А., Джалилова Д. Ш.
Оценка эффективности комбинации риамиловира
и осельтамивира на модели экспериментальной
гриппозной инфекции мышей

21 Falynskova I. N., Lenyova I. A., Makarova O. V.,
Makhmudova N. R., Glubokova E. A., Kartashova N. P.,
Mkhitarov V. A., Dzhaliyova D. Sh.
Evaluation of the Efficacy of Riamilovir and Oseltamivir
Combination on the Experimental Model of Mice Influenza
Infection

В помощь практикующему врачу

Guidelines for Practitioners

Чеботарь И. В., Крыжановская О. А., Алябьева Н. М.,
Савинова Т. А., Боcharова Ю. А., Лазарева А. В.,
Поликарпова С. В., Карасева О. В., Маянский Н. А.
Генотипы и носительство генов β -лактамаз
у карбапенеморезистентных штаммов
Acinetobacter baumannii, выделенных в г. Москве

29 Chebotar I. V., Kryzhanovskaya O. A., Alyabieva N. M.,
Savinova T. A., Yu. A. Bocharova, Lazareva A. V.,
Polikarpova S. V., Karaseva O. V., Mayanskiy N. F.
Genotypes and β -Lactamase Gene Carriage
in Carbapenem-Resistant *Acinetobacter Baumannii*
Isolated in Moscow

Шаталова Е. В., Парахина О. В., Красноухов А. И.
Значимость микробиологического мониторинга
в современной системе профилактики инфекций,
связанных с оказанием медицинской помощи

35 Shatalova E. V., Parakhina O. V., Krasnoukhov A. I.
The Importance of Microbiological Monitoring
in the Modern System of Preventing
Healthcare-Associated Infections

Жукова О. В., Колышкина Т. М., Федосеев В. Б.
Моделирование клинической эффективности
лекарственных препаратов с использованием бета-
распределения (на примере антибиотикотерапии острого
обструктивного бронхита у детей)

39 Zhukova O. V., Kolyshkina T. M., Fedoseev V. B.
Modeling the Clinical Effectiveness
of Drugs Using the Beta Distribution
(on the Example of Antibiotic Therapy
of Acute Obstructive Bronchitis in Children)

История производства лекарственных средств

The History of Manufacture of Medications

Запарий В. В., Дерябина А. В.
Участие уральских учёных
в разработке антибиотиков в 80—90 годах

43 Zapariy V. V., Deryabina A. V.
Participation of Ural Scientists in the Development
of Antibiotics in 80—90s

**Указатель авторов и статей,
опубликованных в журнале в 2017 году**

**50 Index of Authors and Papers
Published in 2017**

* Журнал входит в перечень ведущих научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук.

Индукция антибиотикообразования при глубинном культивировании штаммов редких родов актиномицетов

*Н. Г. КУЛИКОВА, Л. П. ТЕРЕХОВА

НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе РАМН, Москва

Induction of Antibiotic Formation of Strains of Rare Actinomycetes in Depth Cultivation

N. G. KULIKOVA, L. P. TEREKHOVA

Gause Institute of New Antibiotics, Moscow

Были проведены исследования по биосинтезу антибиотиков у культур редких родов актиномицетов, которые представляют интерес как потенциальные продуценты новых антибиотических веществ. В связи с тем, что отобранные штаммы были неактивными при глубинном культивировании на жидких питательных средах, была поставлена цель подбора условий индукции антибиотикообразования у данных культур актиномицетов. Поставленная цель была достигнута при использовании адреналина и калиевой соли индолил-3-уксусной кислоты в качестве активаторов антибиотикообразования.

Ключевые слова: биологически активные соединения, антибиотики, актиномицеты, биосинтез, адреналин, индолил-3-уксусная кислота.

The research was carried out on the biosynthesis of antibiotics in cultures of rare actinomycetes, which are of interest as potential producers of new antibiotic substances. Due to the fact that the selected strains were inactive during deep cultivation on liquid nutrient media, the goal was to select the conditions for induction of antibiotic formation in these cultures of actinomycetes. The goal was achieved with the use of adrenaline and potassium salt of indole-3-acetic acid as activators of antibiotic formation.

Keywords: biologically active compounds, antibiotics, actinomycetes, biosynthesis, adrenaline, indole-3-acetic acid.

Введение

При первичном скрининге штаммов-антагонистов, выделенных из природных источников, антибиотические свойства в отношении набора тест-бактерий проверяются на агаровых средах, затем проводят культивирование продуцентов на жидких питательных средах с целью химического выделения антибиотика, а также микробиологические и химические исследования по определению антибиотического вещества [1]. Однако на практике значительная часть активных на агаровых средах штаммов оказывается биологически неактивной при глубинном культивировании на жидких питательных средах, в связи с чем дальнейшее их изучение не проводится. Известно, что большинство актиномицетов могут синтезировать антибиотики, для этого необходимо подобрать условия культивирования, обеспечивающие биосинтез антибиотика.

Нами были проведены исследования по биосинтезу антибиотиков у культур редких родов актиномицетов (не принадлежащих к роду *Streptomyces*), которые представляют интерес как потенциальные

продуценты новых антибиотических веществ. В связи с тем, что отобранные штаммы были неактивными при глубинном культивировании на жидких питательных средах была поставлена задача подбора условий индукции антибиотикообразования у данных культур актиномицетов.

Материал и методы

Биосинтез антибиотиков при глубинном культивировании проводился у 15 штаммов актиномицетов (6 штаммов почвенных и 9 штаммов эндофитных актиномицетов), которые принадлежали к культурам редких родов порядка *Actinomycetales* — *Nonomuraea* spp., *Nocardopsis* spp. и *Actinoplanes* spp.; на основании изучения антибиотических свойств на агаровых средах отобранные штаммы были активны в отношении грамположительных тест-бактерий, включая метициллинорезистентный стафилококк *Staphylococcus aureus* ИНА 00761 (MRSA).

Глубинное культивирование культур проводили на жидких питательных средах, представленных в табл. 1 [2]. Культуры выращивались в колбах Эрленмейера объемом 750 мл, содержащих 150 мл жидкой питательной среды, при постоянном качании при 180 об/мин и температуре 28°C.

Определение антибиотического спектра действия культуральной жидкости исследуемых штаммов проводили каждые 48 ч методом диффузии в органический агар 2 Гаузе (триптон — 3,0 г; NaCl — 5,0 г; пептон — 5,0 г; агар — 20,0 г; глюкоза — 10,0 г; вода — 1000 мл; pH 7,2–7,4) [2] по отношению к грамположительным тест-бактериям — *Staphylococcus aureus* ИНА 00985 (FDA 209P), *Staphylococcus aureus* ИНА 00761 (MRSA), *Staphylococcus aureus* ИНА 00762,

© Н. Г. Куликова, Л. П. Терехова, 2017

*Адрес для корреспонденции: 119021, г. Москва, ул. Большая Пироговская, д. 11. НИИНА им. Г. Ф. Гаузе

Таблица 1. Состав жидких питательных сред, используемых в работе

Название питательной среды	Состав
Органическая среда	Триптон — 3,0 г; NaCl — 5,0 г; пептон — 5,0 г; CaCO ₃ — 2,5 г; глюкоза — 10,0 г; вода — 1000 мл; pH 7,2 — 7,4
Среда А4	соя — 10,0 г; NaCl — 5,0 г; глюкоза — 10,0 г; CaCO ₃ — 2,5 г; вода — 1000 мл; pH 7,2—7,4
Среда 330	Крахмал — 20,0 г; NaCl — 0,5 г; горох — 0,5 г; CaCO ₃ — 5,0 г; сахароза — 0,5 г; вода — 1000 мл; NaNO ₃ — 5,0 г; pH 7,0
Среда 6613	KNO ₃ — 4,0 г; NaCl — 0,5 г; CaCO ₃ — 5,0 г; дрожжевой экстракт — 2,5 г; крахмал — 20,0 г; вода — 1000 мл; pH 7,0
Среда 2663	Соя — 15,0 г; NaCl — 2,0 г; глицерин — 30,0 г; CaCO ₃ — 5,0 г; вода — 1000 мл; pH 7,0
Среда 5339	Соя — 5,0 г; NaCl — 3,0 г; глицерин — 20,0 г; CaCO ₃ — 2,0 г; (NH ₄) ₂ SO ₄ — 1,5 г; вода — 1000 мл; pH=6,8
Среда 11654	Соя — 20,0 г; NaCl — 3,0 г; глюкоза — 30,0 г; CaCO ₃ — 3,0 г; вода — 1000 мл; pH 7,4
Среда «сах»	Сахароза — 20,0 г; NaCl — 3,0 г; соя — 10,0 г; CaCO ₃ — 3,0 г; KNO ₃ — 2,0 г; вода — 1000 мл; pH 7,0
Среда «тобрекс»	Глюкоза — 40,0 г; KCl — 0,5 г; пептон — 10,0 г; NaNO ₃ — 3,0 г; MgSO ₄ — 1,5 г; FeSO ₄ — 10,0 мг; KH ₂ PO ₄ — 2,0 г; вода дистиллированная — 1000 мл; pH 5,2

Micrococcus luteus ATCC 9341, *Bacillus subtilis* ATCC 6633; грамотрицательным тест-бактериям — *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 и дрожжеподобным грибам — *Saccharomyces cerevisiae* ИНА S-1. Суспензия тест-бактерий для посева на чашки Петри содержала 10⁷–10⁸ КОЕ/мл. Суспензию каждого штамма тест-бактерии засеивали «газоном» на чашку Петри. В лунки вносили по 100 мкл культуральной жидкости исследуемого штамма. Затем чашки помещали в термостат при температуре 28°С на 48 ч, после чего по зонам подавления роста тест-бактерий устанавливали антибиотический спектр действия изучаемого штамма. Диаметр зон угнетения роста тест-микробов измеряли при помощи линейки с точностью до 1 мм.

В качестве индукторов антибиотикообразования были использованы адреналин и калиевая соль индолил-3-уксусной кислоты (ИУК). Известно, что адреналин и ИУК представляют собой биологически активные соединения животного (адреналин) и растительного (адреналин, ИУК) происхождения, которые активизируют биохимические процессы, регулируют метаболические и энергетические процессы в клетках [3, 4]. В работе использовали синтетический адреналин, лекарственное средство под торговым названием Адреналин (эпинефрин) (Московский эндокринный завод, Россия). Ввиду того, что ИУК плохо растворима в воде, была использована водорастворимая калиевая соль ИУК, которая является действующим веществом препарата Гетероауксин (ООО «Ортон», Россия).

Подбор оптимальных концентраций действия адреналина и калиевой соли ИУК проводили на органической среде 2 Гаузе с мелом в отношении грамположительной тест-бактерии *Micrococcus luteus* ATCC 9341. Раствор адреналина брали в концентрациях 0,0005, 0,001, 0,0015 и 0,002 мг/л, калиевой соли ИУК — 0,005, 0,01, 0,015, 0,02 и 0,025 мг/л. Растворы биогенных аминов добавляли в жидкие питательные среды с первого дня культивирования актиномицетов, пропуская через стерильный мембранный фильтр диаметром пор 0,22 мкм во избежание контаминации культуральной жидкости.

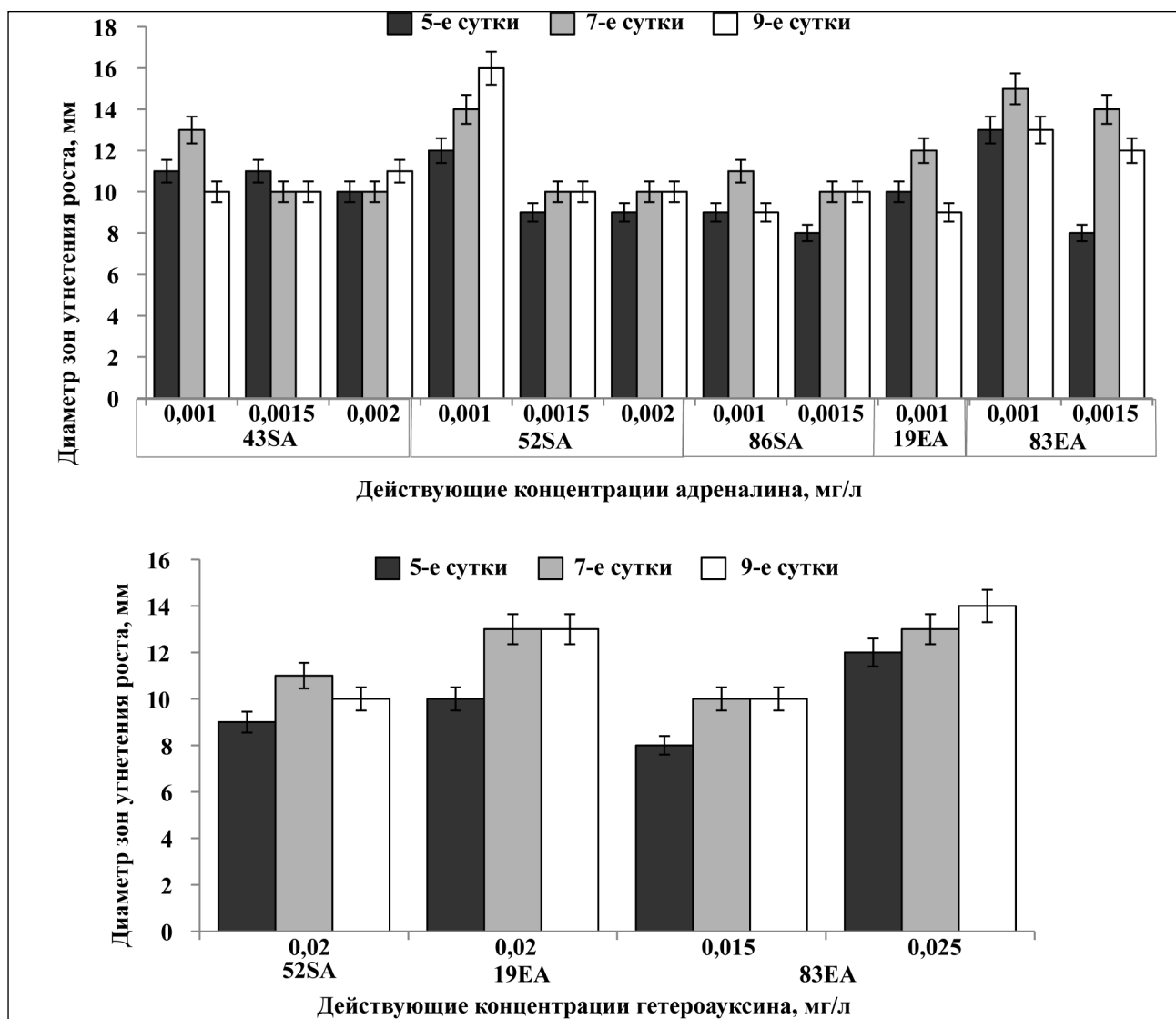
Изучение чувствительности тест-бактерий к растворам биогенных аминов проводили методом градиентных пластин. В стерильные чашки Петри, поставленные наклонно, наливали слой органического агара 2 Гаузе. После того, как застывал нижний слой агара, чашку ставили в горизонтальное положение и наливали второй слой питательного агара, содержащего раствор биогенного амина (биомедиатора): адреналина в концентрациях 0,0005, 0,001, 0,0015, 0,002 мг/л и/или калиевой соли ИУК — 0,005, 0,01, 0,015, 0,02 и 0,025 мг/л. В качестве контроля служили чашки с двумя слоями агара без растворов биомедиаторов. На поверхность агара наносили суспензию спор изучаемого организма в виде штриха по направлению к краю чашки с наибольшей концентрацией раствора адреналина или калиевой соли ИУК. Чашки инкубировали при 28°С

в течение 5–7 сут., после чего определяли антибактериальное действие изучаемых биогенных аминов в отношении используемых тест-бактерий. Опыты проводили в трёхкратной повторности.

С целью индукции антибиотикообразования штаммы актиномицетов редких родов *Actinoplanes* spp., *Nocardopsis* spp. и *Nonomuraea* spp. выращивали на жидких питательных средах (табл. 1) с добавлением растворов адреналина и калиевой соли ИУК с первого дня культивирования.

Результаты и обсуждение

Известно, что индуцировать антибиотикообразование у актиномицетов возможно посредством ауторегуляторов — физиологически активных соединений различной химической природы. Эти соединения играют сигнальную роль в изменении количественного (скорость роста) или качественного (цитодифференцировка) состояния микробной культуры [5, 6]. Также известно, что биомедиаторы влияют на биохимические и метаболические процессы в клетках [3]. Для выполнения поставленной задачи по подбору условий индукции биосинтеза антибиотиков у отобранных культур актиномицетов нам было необходимо подобрать ауторегуляторы, которые влияли бы на метаболические процессы в микробных клетках актиномицетов и посредством которых активизировался бы биосинтез антибиотических веществ. В ранее проведённых исследованиях по влиянию адреналина и калиевой соли ИУК на прорастание спор актиномицетов установлено, что данные соединения оказывают стимулирующее действие на прорастание спор актинобактерий при выделении их из почвенных и растительных образцов, а также способствуют выделению большего количества антибиотически активных штаммов актиномицетов из природных источников [7, 8]. Предположив, что растворы биогенных аминов могут оказать иницирующее действие на биосинтез антибиотиков посредством влияния на экспрессию генов и метаболические пути антибиотикообразования у актиномицетов, мы провели серию экспериментов по подбору их действующих концентраций при глубинном культивиро-



Зоны подавления роста *Micrococcus luteus* ATCC 9341 штаммами редких родов актиномицетов, культивируемых на жидкой питательной среде 2 Гаузе с мелом.

Примечание. SA — почвенные актиномицеты; EA — эндофитные актиномицеты. Неактивные культуры были исключены из диаграмм. Достоверность различий соответствует $p \leq 0,05$.

вании штаммов на жидкой питательной среде 2 Гаузе с мелом в отношении *M. luteus* ATCC 9341. После культивирования исследуемых актиномицетов на жидких средах с биологически активными веществами в концентрациях адреналина — 0,001, 0,0015 и 0,002 мг/л, калиевой соли ИУК — 0,015 и 0,02 мг/л на 5—9-е сутки у некоторых культур наблюдалось появление антибактериального действия в отношении тест-бактерии (рисунок). В контроле исследуемые штаммы были не активны. В результате проведенных экспериментов были установлены оптимальные концентрации действия адреналина — 0,001 мг/л и калиевой соли ИУК — 0,02 мг/л.

Появление антибактериального действия у исследуемых штаммов при культивировании на жидких питательных средах с добавлением биогенных аминов может быть связано с двумя фак-

торами — чувствительностью тест-бактерий к растворам адреналина и/или ИУК или индукцией образования антибиотиков биогенными аминами. Для того, чтобы понять за счёт каких факторов наблюдалось появление антибиотической активности, была изучена чувствительность тест-бактерий к адреналину и калиевой соли ИУК. Проверка чувствительности тест-бактерий к биомедиаторам показала, что к установленным концентрациям биогенных аминов тест-бактерии не чувствительны. Ввиду того, что антибактериальная активность у биогенных аминов не была обнаружена, влияние внесённых в питательную среду биомедиаторов нельзя объяснить их антибиотическим действием на тест-бактерии.

В результате проведенных экспериментов по индукции биосинтеза антибиотиков путём добавления в жидкие питательные среды био-

Таблица 2. Результаты изучения индукции антибиотикообразования неактивными культурами актиномицетов редких родов на различных жидких питательных средах

№ активного штамма	Название жидкой питательной среды с добавлением адреналина/гетероауксина	Зона подавления тест-бактерий, мм	
		<i>Staphylococcus aureus</i> ИНА 00762	<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341
52SA	Среда 2663	20±1	18±0,85
	Среда 11654	22±1,1	15±0,75
	Органическая среда 2 Гаузе с мелом	22±1,1	15±0,73
19EA	Среда 2663	18±0,85	18±0,85
	Среда 11654	22±1,1	16±0,8
	Органическая среда 2 Гаузе с мелом	20±1	18±0,85
20EA	Среда 2663	16±0,8	н/а
83EA	Среда 2663	21±1,05	18±0,85
	Среда 11654	20±1	12±0,6
85EA	Среда 2663	16±0,8	н/а
90EA	Среда 2663	15±0,75	н/а
97EA	Среда 11654	18±0,85	12±0,6
109EA	Среда 11654	20±1	н/а

Примечание. Указаны номера антибиотически активных штаммов на жидкой питательной среде. Достоверность различий соответствует $p \leq 0,05$.

логически активных соединений выявлено, что при ферментации культур на жидких питательных средах — среде 2663, органической среде 2 Гаузе с мелом и среде 11654 с адреналином (0,001 мг/л) и/или калиевой соли ИУК (0,02 мг/л) у 8 штаммов из 15 инициируется образование антибиотических веществ, активных в отношении грамположительных тест-бактерий *Staphylococcus aureus* ИНА 00762 и *Micrococcus luteus* ATCC 9341. Вероятнее всего, адреналин и гетероауксин, являясь биогенными аминами, могут стимулировать активацию ферментов синтеза вторичных метаболитов посредством активизации биохимических и метаболических процессов в клетках (табл. 2) [3, 4].

ЛИТЕРАТУРА

1. Гаузе Г.Ф. Пути изыскания новых антибиотиков. Изд-во Академии наук СССР, М.: 1961. — 174 с. / Gauze G.F. Puti izyskaniya novykh antibiotikov. Izd-vo Akademii nauk SSSR, M.: 1961; 174. [in Russian]
2. Гаузе Г.Ф., Преображенская Т.П., Свешникова М.Л., Терехова Л.П., Максимова Т.С. Определитель актиномицетов. М.: Наука, 1983. — 245 с. / Gauze G.F., Preobrazhenskaya T.P., Sveshnikova M.L., Terekhova L.P., Maksimova T.S. Opredelitel' aktinomitsvetov. M.: Nauka, 1983; 245. [in Russian]
3. Рощина В.В. Нейротрансмиттеры — биомедиаторы и регуляторы растений: Учебное пособие. [Электронный ресурс]. Пушино: Институт биофизики клетки РАН. — 2010. — Режим доступа: <http://window.edu.ru/resource/504/68504/files/neirottransmitters.pdf> / Roshchina V.V. Neirotransmittery — biomediatory i regulatory rastenij: Uchebnoe posobie. [Elektronnyj resurs]. Pushchino: Institut biofiziki kletki RAN. — 2010. — Rezhim dostupa: <http://window.edu.ru/resource/504/68504/files/neirottransmitters.pdf> [in Russian]
4. Herbert E. J., Donald G. C. Indole-3-acetic Acid. Org Synth Coll 1964, 44: 64: 5: 654.
5. Черногор Н. П., Винников А. И., 2004. Ауторегуляторы роста микроорганизмов [Электронный ресурс]. Днепропетровский национальный университет. — 2004. — Режим доступа: <http://www.stat-tionline.org.ua/biolog/47/5832-autoregulatory-rosta-mikroorganizmov.html> / Chernogor N. P., Vinnikov A. I., 2004. Autoregulatory rosta mikroorganizmov [Elektronnyj resurs]. Dnepropetrovskij natsional'nyj universitet. — 2004. — Rezhim dostupa: <http://www.stat-tionline.org.ua/biolog/47/5832-autoregulatory-rosta-mikroorganizmov.html> [in Russian]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Куликова Нина Георгиевна — к. б. н., н. с. лаборатории таксономического изучения и коллекции культур микроорганизмов, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва

Можно заключить, что, по-видимому, внесение биогенных аминов инициирует биосинтез антибиотических веществ у некоторых культур актиномицетов. Полученные результаты предполагают возможность применения адреналина и калиевой соли ИУК в качестве ауторегуляторов индукции образования антибиотиков у культур редких родов актиномицетов, что будет способствовать наиболее полному выявлению потенциальных продуцентов антибиотических веществ с новыми ценными свойствами.

Можно заключить, что, по-видимому, внесение биогенных аминов инициирует биосинтез антибиотических веществ у некоторых культур актиномицетов. Полученные результаты предполагают возможность применения адреналина и калиевой соли ИУК в качестве ауторегуляторов индукции образования антибиотиков у культур редких родов актиномицетов, что будет способствовать наиболее полному выявлению потенциальных продуцентов антибиотических веществ с новыми ценными свойствами.

6. Ефременкова О.В. Ауторегуляторы группы А-фактора. Биоорганическая химия, 2016. — №5. — С. 508-525. / Efremenkova O.V. Autoregulatory gruppy A-faktora. Bioorganicheskaya khimiya 2016; 5: 508-525. [in Russian]
7. Мачавариани Н.Г., Кустова Н.А., Галатенко О.А. Выделение актиномицетов — продуцентов антибиотиков из почвы селективными методами, основанными на активации прорастания спор. Химическое и нефтегазовое машиностроение. — 2010. — С. 21. / Machavariani N.G., Kustova N.A., Galatenko O.A. Vydelenie aktinomitsvetov — produtsentov antibiotikov iz pochvy selektivnymi metodami, osnovannymi na aktivatsii prorstaniya spor. Khimicheskoe i neftegazovoe mashinostroenie 2010; 21. [in Russian]
8. Machavariani N. G., Ivankova T. D., Sineva O. N., Terekhova L. P. Isolation of Endophytic Actinomycetes from Medicinal Plants of the Moscow Region, Russia. World Applied Sciences J 2014; 30 (11): 1599—1604.

Терехова Лариса Петровна — д. б. н., профессор, зав. лабораторией таксономического изучения и коллекции культур микроорганизмов, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва

Антимикотическая активность штамма *Bacillus subtilis* 534 — основы лекарственного препарата пробиотика споробактерина

Н. И. ГАБРИЭЛЯН¹, И. В. ДРАБКИНА¹, Т. В. КРУПЕНИО¹, М. В. ДЕМЬЯНKOBA^{1,2}, И. А. МАЛАНИЧЕВА²,
Б. Ф. ВАСИЛЬЕВА², Т. А. ЕФИМЕНКО², И. Г. СУМАРУКОВА², А. А. ГЛУХОВА², Ю. В. БОЙКОВА²,
Н. Д. МАЛКИНА², В. В. УДАЛОВА², В. А. АЛФЕРОВА², В. А. КОРШУН², О. В. ЕФРЕМЕНKOBA^{2*}

¹ Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В. И. Шумакова Минздрава России, Москва

² НИИ по изысканию новых антибиотиков имени Г. Ф. Гаузе, Москва

Antimycotic Activity of the *Bacillus subtilis* 534 Strain — Foundations of Probiotic Sporobacterin

N. I. GABRIELIAN¹, I. V. DRABKINA¹, T. B. KRUPENIO¹, M. V. DEMYANKOVA^{1,2}, I. A. MALANICHEVA²,
B. F. VASILIEVA², T. A. EFIMENKO², I. G. SUMARUKOVA², A. A. GLUKHOVA², YU. V. BOYKOVA²,
N. D. MALKINA², V. V. UDALOVA², V. A. ALFEROVA², V. A. KORSHUN², *O. V. EFREMENKOVA²

¹ Academician V. I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow

² Gause Institute of New Antibiotics, Moscow

Цель исследования заключалась в изыскании антимикотической активности пробиотического штамма *Bacillus subtilis* 534 в условиях культивирования *in vitro*. В качестве тестов для определения антимикотической активности использовали 36 клинических изолятов патогенных грибов *Candida albicans*, *C. catenulata*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. lusitanae*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichosporon* sp. и водоросли *Prototheca* sp. Клинические изоляты отличаются по устойчивости/чувствительности к антимикотикам амфотерицину, миконазолу, кетоконазолу, итраконазолу и флуконазолу, причём 10 изолятов устойчивы ко всем пяти антимикотикам. Из 36 клинических изолятов 34 чувствительны к культуральной жидкости штамма *B. subtilis* 534 и выделенным из неё активным компонентам. Предположительно в кишечнике человека штамм 534 также образует антимикробные соединения, активные в отношении патогенных грибов, что обуславливает его лекарственную антимикотическую эффективность. Длительное применение в медицинской практике лекарственного препарата споробактерина, представляющего суспензию спор штамма *B. subtilis* 534, свидетельствует об отсутствии побочных эффектов.

Ключевые слова: пробиотик споробактерин, *Bacillus subtilis* 534, резистентность, антимикотическое действие.

The aim of the study was to find the antimycotic activity of the probiotic strain *Bacillus subtilis* 534 under conditions of *in vitro* cultivation. 36 clinical isolates of pathogenic fungi *Candida albicans*, *C. catenulata*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. lusitanae*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichosporon* sp. and algae *Prototheca* sp. were used as test items for the determination of antimycotic activity. Clinical isolates differ in resistance/sensitivity to antimycotics amphotericin, miconazole, ketoconazole, itraconazole, and fluconazole, with 10 clinical isolates resistant to all five of these drugs. Out of 36 clinical isolates, 34 are sensitive to the culture liquid of the strain *B. subtilis* 534 and the active components isolated from it. Presumably, in human intestine strain 534 forms antimicrobial compounds that are active against pathogenic fungi, which causes its antimycotic efficacy. The long-term use of Sporobacterin drug, which is a spore suspension of *B. subtilis* strain 534, in medical practice indicates no side effects.

Keywords: probiotic sporobacterin, *Bacillus subtilis* 534, resistance, antimycotic action.

Открытие и внедрение в медицинскую практику антибиотиков было одним из самых важных достижений медицины XX века, однако постепенно ответной реакцией патогенных микроорганизмов стала выработка механизмов устойчивости к применяемым препаратам. В настоящее время распространение патогенных штам-

мов с множественной устойчивостью к антибиотикам достигло критического уровня, в связи с чем существует потребность в разработке новых антибиотиков, а также иных антимикробных препаратов, сочетающих эффективность и отсутствие токсичности [1—3]. К числу последних относят пробиотики — лекарственные препараты на основе живых микроорганизмов, воздействующие на патогенную микрофлору человека или нормализующие баланс нормальной кишечной микрофлоры.

© Коллектив авторов, 2018

*Адрес для корреспонденции: E-mail: ovefr@yandex.ru

К микроорганизмам-пробиотикам относят как естественных обитателей кишечника, например, кишечную палочку, лактобацилл и бифидобактерий, так и транзиторных (самоэлиминирующихся) бактерий. В России и в других странах в последние десятилетия активно изучают бацилл в качестве транзиторных пробиотиков, в частности штаммы вида *Bacillus subtilis*, чему посвящён ряд обзорных статей [4–8]. Данный вид бактерий широко распространён в природе и попадает в организм человека разными путями: с воздухом, водой, пищевыми продуктами. В связи с этим некоторые авторы рассматривают его в качестве одного из естественных компонентов микрофлоры кишечника [8, 9].

В России более четверти века применяют лекарственный препарат споробактерин, основой которого является штамм-пробиотик *B. subtilis* 534 [10]. Ранее нами было показано, что штамм 534 в условиях культивирования *in vitro* образует несколько антимикробных веществ, активных в отношении ряда коллекционных тест-штаммов и клинических изолятов бактерий *Acinetobacter baumannii*, *Bacillus* spp., *Micrococcus luteus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* (включая MRSA), *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, а также грибов *Aspergillus niger*, *Candida* spp., *Saccharomyces cerevisiae* [11–13].

Целью данного исследования было с помощью клинических изолятов патогенных грибов с различной устойчивостью/чувствительностью к противогрибковым антибиотикам (антимикотикам) определить в опытах *in vitro* антимикотическую активность пробиотического штамма *Bacillus subtilis* 534.

Материал и методы

Объектом исследования служил штамм *Bacillus subtilis* 534 — основа лекарственного препарата «споробактерин жидкий».

Условия культивирования. Глубинное культивирование штамма 534 осуществляли с использованием модифицированной среды №2 Гаузе следующего состава (в %): глюкоза — 1, пептон — 0,5, триптон — 0,3, NaCl — 0,5, вода водопроводная; pH 7,2–7,4. В колбы Эрленмейера объёмом 750 мл со 150 мл среды вносили суспензию спор штамма 534 в количестве 106/мл, после чего засеянные колбы помещали на ротаторную качалку со скоростью вращения 220 об/мин при температурном режиме 28°C. Антимикотическую активность культуральной жидкости (КЖ) определяли на 2-е, 4-е и 7-е сутки культивирования. Для поверхностного культивирования штамма 534 и клинических изолятов грибов использовали агаризованный вариант модифицированной среды № 2 Гаузе с добавлением 2% агара, культивирование осуществляли при 37°C.

Определение антимикотической активности. Антимикотическую активность культуральной жидкости штамма 534 и отдельных выделенных из неё ранее компонентов [12] определяли методом диффузии в агар. Для этого на поверхность агаровой среды с высеянными газом исследуемого штамма клинического изолята помещали бумажные диски диаметром 6 мм с нанесёнными сырцами отдельных компонентов КЖ в количестве 10 мкл или по 100 мкл КЖ штамма 534 закапывали в лунки диаметром 9 мм. Через сутки инкубирования при 37°C определяли диаметры зон задержки роста грибов вокруг дисков или лунок, являющиеся показателем антимикотической активности.

Характеристика изолятов патогенных грибов. Видовую идентификацию клинических изолятов грибов и их отношение к антимикотикам проводили на автоматическом бактериологическом анализаторе для идентификации микроорганизмов Siemens MicroScan Walk Away — 96 Plus System (США). Определяли чувствительность/устойчивость изолятов патогенных грибов к следующим антимикотикам медицинского назначения: амфотерицину В (AB), миконазолу (MCZ), кетоконазолу (KET), итраконазолу (ITR), флуконазолу (FLU).

Результаты и обсуждение

Антимикотическую активность КЖ штамма *B. subtilis* 534 и выделенных из неё трёх компонентов определяли в отношении 33 штаммов патогенных грибов и 3 штаммов патогенной водоросли *Prototheca* sp., инфекции которой также лечат противогрибковыми антибиотиками. Из табл. 1 следует, что КЖ штамма 534 подавляет рост 26 штаммов из 36, причём рост 8 штаммов, а именно *Candida catenulata* 1507 и 6093, *C. glabrata* 13, *C. krusei* 247, *C. parapsilosis* 1380, *C. tropicalis* 455, *C. neoformans* 25 и *Prototheca* sp. 6017, подавляется не КЖ, а отдельными выделенными из неё компонентами. Это объясняется тем, что при выделении и очистке сырцов отдельных компонентов КЖ, их упаривании и последующем растворении в небольшом объёме воды концентрация активных веществ возрастает примерно в 500 раз, и, с учётом описанных выше различий в методе определения антимикотической активности КЖ и её компонентов, в наносимом на диск образце содержание антимикотиков выше примерно в 50 раз по сравнению с их содержанием в образце КЖ, внесённом в лунку.

В табл. 2 суммировано, что 10 из 36 клинических изолятов устойчивы ко всем 5 представителям медицинских антимикотиков трёх исследуемых групп, а именно полиенов, имидазолов и триазолов, но рост этих штаммов подавляет культуральная жидкость штамма *B. subtilis* 534 или её компоненты (табл. 1). Только 2 штамма *C. albicans*, а именно 1610 и 2122, устойчивы и к КЖ, и к сконцентрированным сырцам отдельных компонентов КЖ штамма 534. Поскольку эти два штамма чувствительны к исследованным медицинским антимикотикам, можно предположить иную химическую природу антимикотиков штамма *B. subtilis* 534 (см. табл. 1).

Наряду с такими свойствами, как усиление неспецифического и специфического иммунитета, стимуляция роста нормальной микрофлоры кишечника и выделение пищеварительных ферментов, действие пробиотиков может быть связано с синтезом антибиотических веществ различной химической природы. Пребывание *B. subtilis* в кишечнике теплокровных животных сохраняется от 10 до 30 сут., причём бактерии присутствуют в форме вегетативных клеток и спор, и до выведения из организма с калом неоднократно повторяется процесс прорастания спор

Таблица 1. Антимикотическая активность культуральной жидкости штамма *B.subtilis* 534 и выделенных из неё компонентов 1, 2 и 3, а также медицинских антимикотиков, в отношении клинических изолятов грибов

Клинические изоляты грибов	Чувствительность к КЖ штамма 534 и ее компонентам 1, 2 и 3*				Чувствительность к антимикотикам				
	(зоны задержки роста в мм)				полиен	имидазолы		триазолы	
	к.ж.	1	2	3		MCZ	KET	ITR	FLU
<i>Candida albicans</i> 58	18	0	0	0	AB	R	R	R	R
<i>C.albicans</i> 182	19	0	0	0	S	S	S	S	S
<i>C.albicans</i> 265	29	0	8	0	R	S	S	I	S
<i>C.albicans</i> 317	20	0	0	0	S	R	R	R	R
<i>C.albicans</i> 456	23	0	0	0	R	I	I	I	S
<i>C.albicans</i> 458	17	7	0	0	R	R	R	R	R
<i>C.albicans</i> 848	28	0	0	0	R	R	R	R	R
<i>C.albicans</i> 922	24	0	0	0	I	R	R	R	R
<i>C.albicans</i> 1187	19	0	0	0	I	I	S	I	S
<i>C.albicans</i> 1294	31	0	0	0	R	R	R	R	R
<i>C.albicans</i> 1610	0	0	0	0	S	R	I	S	S
<i>C.albicans</i> 2122	0	0	0	0	S	I	I	I	I
<i>C.albicans</i> 2356	12	0	0	0	R	R	R	R	R
<i>C.albicans</i> 4166	25	7	0	0	I	R	R	I	R
<i>C.albicans</i> 4244	25	0	0	0	R	R	R	I	R
<i>C.albicans</i> 4438	24	0	0	0	S	I	S	I	R
<i>C.albicans</i> 4895	24	0	0	0	R	I	R	R	R
<i>C.albicans</i> 4897	24	0	0	0	S	S	I	R	R
<i>C.albicans</i> 5228	14	8	0	0	R	I	R	R	R
<i>C.albicans</i> 5721	24	0	0	0	R	I	R	R	R
<i>C.albicans</i> 5963	18	7	0	0	R	R	R	R	R
<i>C.albicans</i> 6107	17	0	0	0	R	R	I	R	S
<i>C.catenulata</i> 1507	0	7	0	0	I	I	I	I	R
<i>C.catenulata</i> 6093	0	8	0	12	R	I	I	R	I
<i>C.glabrata</i> 13	0	7	0	11	R	I	I	I	I
<i>C.glabrata</i> 212	18	9	8	11	R	R	R	R	R
<i>C.krusei</i> 247	0	8	0	0	S	R	S	I	S
<i>C.lusitaniae</i> 5254	22	0	0	0	R	I	S	I	S
<i>C.parapsilosis</i> 1380	0	7	0	0	S	S	S	I	S
<i>C.tropicalis</i> 455	0	8	0	0	R	R	R	R	R
<i>Cryptococcus neoformans</i> 25	0	7	0	12	R	I	I	R	I
<i>Cr.neoformans</i> 245	25	0	0	9	R	S	I	I	I
<i>Prototheca</i> sp. 110	27	0	0	0	R	R	R	R	R
<i>Prototheca</i> sp. 6017	0	7	0	10	R	I	R	R	I
<i>Prototheca</i> sp. 6047	24	0	0	0	R	R	R	R	R
<i>Trichosporon</i> sp. БМ1.5	24	0	0	13	S	I	I	I	S
Всего R	10	23	34	29	23	17	18	20	20
Всего S и I	26	13	2	7	13	19	18	16	16

Примечание. AB – амфотерицин В; MCZ – миконазол; KET – кетоконазол; ITR – итраконазол; FLU – флуконазол; R – устойчивость к антимикотику; S – чувствительность к антимикотику; I – промежуточная чувствительность к антимикотику; * – выделение компонентов описано ранее [12].

Таблица 2. Чувствительность/устойчивость 36 клинических изолятов к пяти антимикотикам медицинского назначения амфотерицину В, миконазолу, кетоконазолу, итраконазолу, флуконазолу, а также к культуральной жидкости штамма *B.subtilis* 534 или выделенным из неё трём компонентам

Чувствительность к 5 антимикотикам	5
Чувствительность к 4 антимикотикам	9
Чувствительность к 3 антимикотикам	3
Чувствительность к 2 антимикотикам	3
Чувствительность к 1 антимикотику	6
Устойчивость ко всем 5 антимикотикам	10
Чувствительность к КЖ штамма 534 и/или к выделенным из неё трём компонентам	34
Устойчивость к КЖ штамма 534 и/или к выделенным из неё трём компонентам	2

и респоруляции [14]. Можно предположить, что в кишечнике и в питательной среде в колбах процессы развития *B.subtilis* схожи и возможно выделение антибиотических веществ *in vivo*, что можно рассматривать как один из механизмов действия споробактерина.

Методом дисков нами была определена чувствительность/устойчивость штамма *B.subtilis* 534 к применяемым в медицине антибиотикам. Штамм *B.subtilis* 534 устойчив к линкомицину и оксацилину, поэтому возможно назначение споробактерина одновременно с этими антибиотиками. Сле-

дующие антибиотики подавляют рост штамма *B.subtilis* 534: амикацин, амоксициллин/клавулановая кислота, ампициллин, ампициллин/сульбактам, азитромицин, ванкомицин, доксициклин, клиндамицин, левомицетин, фосфомицин, гентамицин, канамицин, левофлоксацин, метронидазол, налидиксовая кислота, неомицин, новобиотин, норфлоксацин, окситетрациклин, офлоксацин, пенициллин, спектиномицин, тетрациклин, тобрамицин, триметоприм, цефазолин, цефалотин, цефотаксим, цефотаксим/клавулановая кислота, цефтриаксон, ципрофлоксацин, эритромицин, поэтому целесообразно применять эти антибиотики или после его завершения для нормализации кишечной микрофлоры.

ЛИТЕРАТУРА

1. World Health Organization. Antimicrobial resistance. 2016. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>
2. Butler M.S., Blaskovich M.A., Cooper M.A. Antibiotics in the clinical pipeline in 2013. *J Antibiotics* 2013; 66 (10): 571–591.
3. Butler M. S., Blaskovich M. A. T., Cooper M. A. Antibiotics in the clinical pipeline at the end of 2015. *J Antibiotics* 2017; 70 (1): 3–24.
4. Похиленко В.Д., Перельгин В.В. Пробиотики на основе спорообразующих бактерий и их безопасность. Химическая и биологическая безопасность. — 2007. — № 32–33 (2–3). — С. 20–41. / Pokhilenko V.D., Pereygin V.V. Probiotiki na osnove spooroobrazuyuschikh bakterij i ikh bezopasnost'. *Khimicheskaya i biologicheskaya bezopasnost'* 2007; 32–33 (2–3): 20–41. [in Russian]
5. Скрыпник И.Н., Маслова А.С. Современные спорообразующие пробиотики в клинической практике. Сучасна гастроентерологія — 2009. — № 3 (47). — С. 81–90. / Skrypnyk I.N., Maslova A.S. Sovremennye spooroobrazuyushchie probiotiki v klinicheskoy praktike. *Suchasna gastroenterologiya* 2009; 3 (47): 81–90. [in Russian]
6. Савустьяненко А.В. Механизмы действия пробиотиков на основе *Bacillus subtilis*. Актуальная инфектология. — 2016. — № 2 (11). — С. 35–44. / Savust'yanenko A.V. Mekhanizmy dejstviya probiotikov na osnove *Bacillus subtilis*. *Aktual'naya infektolegiya* 2016; 2 (11): 35–44. [in Russian]
7. Sanders M.E., Morelli L., Tompkins T.A. Sporeformers as Human Probiotics: *Bacillus*, *Sporolactobacillus*, and *Brevibacillus*. *CRFSFS: Comprehensive Rev Food science Food Safety* 2003; 2 (3): 101–110.
8. Cutting S.M. *Bacillus* probiotics. *Food Microbiology* 2011; 28: 214e220. doi:10.1016/j.fm.2010.03.007.
9. Sorokulova I. Modern Status and Perspectives of *Bacillus* Bacteria as Probiotics *J Prob Health* 2013; 1 (4): Numb. of publ. 1000e106.
10. Никитенко В.И., Полякова В.С., Никитенко М.В. Препарат споробактерин. Новые данные о механизме действия этого и других живых бактериальных препаратов. Научный вестник Тюменской медицинской академии. — 2001. — № 2. — С. 70–72. / Nikitenko V.I., Polyakova V.S., Nikitenko M.V. Preparat sporobakterin. Novye dannye o mekhanizme dejstviya etogo i drugih zhivykh bakterial'nykh preparatov. *Nauchnyj vestnik Tyumenskoj meditsinskoj akademii* 2001; 2: 70–72. [in Russian]
11. Габриэлян Н.И., Давыдов Д.С., Горская Е.М. Использование споробактерина в послеоперационном периоде у пациентов кардиохи-

Заключение

Штамм *B.subtilis* 534 при росте на питательной среде *in vitro* образует антимикробные соединения, в том числе эффективные в отношении патогенных грибов разных видов, устойчивых к современным антимикотикам. Предположительно в кишечнике человека штамм 534 также образует антимикробные соединения, активные в отношении патогенных грибов, что обуславливает его лекарственную антимикотическую эффективность. Длительное применение в медицинской практике лекарственного препарата споробактерина, представляющего суспензию спор штамма *B.subtilis* 534, свидетельствует об отсутствии побочных эффектов.

- рургического профиля. Антагонизм *in vitro* споробактерина в отношении нозокомиальных штаммов бактерий. *Вестн трансплантол искусств органов*. — 2008. — № 6. — С. 12–18. / Gabrielyan N.I., Davydov D.S., Gorskaya E.M. Ispol'zovanie sporobakterina v posleoperatsionnom periode u patsientov kardiokhirurgicheskogo profilya. *Antagonizm in vitro sporobakterina v otnoshenii nozokomial'nykh shtammov bakterij*. *Vestn transplantol iskusstv organov* 2008; 6: 12–18. [in Russian]
12. Габриэлян Н.И., Горская Е.М., Крупенио Т.В., Зенкова В.А., Ефименко Т.А., Маланicheva И.А., Сумарукова И.Г., Ефременкова О.В., Евлашкина В.Ф., Давыдов Д.С. Оценка антимикробной активности бациллярного пробиотика *Bacillus subtilis* (штамм 534). Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. — 2016. — №1. — С. 41–47. / Gabrielyan N.I., Gorskaya E.M., Krupenio T.V., Zenkova V.A., Efimenko T.A., Malanicheva I.A., Sumarukova I.G., Efremenkova O.V., Evlashkina V.F., Davydov D.S. Otsenka antimikrobnoy aktivnosti batsillyarnogo probiotika *Bacillus subtilis* (shtamm 534). *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni. Aktual'nye voprosy* 2016; 1: 41–47. [in Russian]
 13. Ефременкова О.В., Габриэлян Н.И., Маланicheva И.А., Ефименко Т.А., Ефременкова О.В., Габриэлян Н.И., Маланicheva И.А., Ефименко Т.А., Терехова Л.П., Удалова В.В., Глухова А.А., Розогжин Е.А., Алферова В.А., Коршун В.А., Кубанова М.Х., Драбкина И.В., Крупенио Т.В. Антибиотическая активность пробиотического штамма *Bacillus subtilis* 534 в отношении клинических изолятов *Acinetobacter baumannii*. Антибиотики и химиотер. — 2016. — Т. 61. — № 9–10. — С. 3–7. / Efremenkova O.V., Gabrielyan N.I., Malanicheva I.A., Efimenko T.A., Efremenkova O.V., Gabrielyan N.I., Malanicheva I.A., Efimenko T.A., Terekhova L.P., Udalovala V.V., Glukhova A.A., Rogozhin E.A., Alferova V.A., Korshun V.A., Kubanova M.KH., Drabkina I.V., Krupenio T.V. Antibioticheskaya aktivnost' probioticheskogo shtamma *Bacillus subtilis* 534 v otnoshenii klinicheskikh izolyatov *Acinetobacter baumannii*. *Antibiotiki i khimioter* 2016; 61 (9–10): 3–7. [in Russian]
 14. Осипова И.Г., Сорокулова И.Б., Васильева Е.А., Буданова Е.В. Доклинические испытания новых споровых пробиотиков. *Вестн РАМН*. 2005. — № 12. — С. 36–40. / Osipova I.G., Sorokulova I.B., Vasil'eva E.A., Budanova E.V. Doklinicheskie ispytaniya novykh sporyvykh probiotikov. *Vestn. RAMN* 2005; 12: 36–40. [in Russian]
 15. Leser T.D., Knarreborg A., Worm J. Germination and outgrowth of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* spores in the gastrointestinal tract of pigs. *J Appl Microbiol* 2008; 104 (4): 1025–1033.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Габриэлян Нина Индаровна — заведующая отделом, ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В. И. Шумакова» Минздрава России, Москва

Драбкина Ирина Васильевна — врач-бактериолог, ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В. И. Шумакова» Минздрава России, Москва

Крупенио Татьяна Владимировна — лаборант исследователь, ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В. И. Шумакова» Минздрава России, Москва

Демьянкова Мария Владимировна — лаборант исследователь ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва

Маланicheva Ирина Алексеевна — с. н. с., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва

Васильева Базилья Фейзуловна — н. с., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва

Ефименко Татьяна Александровна — н. с., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва

Сумарукова Ирина Георгиевна — н. с., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва

Глухова Алла Алексеевна — н. с., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва

Бойкова Юлия Вадимовна — н. с., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва.

Малкина Наталья Дмитриевна — н. с., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва.

Удалова Виктория Викторовна — н. с., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва

Алферова Вера Александровна — н. с., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва

Коришун Владимир Аркадьевич — руководитель лаборатории, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва

Ефременкова Ольга Владимировна — руководитель сектора, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва

Ингибирование адгезии бактерий *Staphylococcus* на сетчатых имплантатах в комбинации с биоцидами (*in vitro*)

*М. В. КУЗНЕЦОВА^{1,2}, А. А. ПАРШАКОВ¹, Е. В. АФАНАСЬЕВСКАЯ¹, В. А. САМАРЦЕВ¹

¹ ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е. А. Вагнера» Минздрава России, Пермь

² ФБГУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь

Inhibition of Adhesion of *Staphylococcus* Bacteria on Mesh Implants in Combination with Biocides (*in vitro*)

*M. V. KUZNETSOVA^{1,2}, A. A. PARSHAKOV¹, E. V. AFANASYEVSKAYA¹, V. A. SAMARTSEV¹

¹ Perm State Medical University named after Academician E. A. Wagner, Perm

² Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of RAS, Perm

Оценена адгезия *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923 и клинических штаммов *S. aureus*, *S. epidermidis* на монофиламентных хирургических сетчатых имплантатах — макропористом полиэфировом и микропористом полипропиленовом, в комбинации с биоцидами в эксперименте *in vitro*. Клетки стафилококков адгезировались на поверхности фрагментов имплантатов без обработки биоцидами уже через несколько часов, при этом не выявлено существенного влияния на адгезию структуры или химический состав волокна. Кратковременная экспозиция имплантатов в растворах амоксициллина (100 мкг/мл) и хлоргексидина (0,5%) приводила к ингибированию роста бактерий и контаминации поверхности как минимум в течение двух суток. В варианте с ванкомицином (100 мкг/мл) бактериальные клетки адгезировались на поверхности сетчатых фрагментов через 24 ч, но их количество было достоверно меньше, чем в контроле. Отмечено, что оба имплантата в комбинации с хлоргексидином не были контаминированы бактериями *S. aureus* в течение 2 сут. и в условиях высокой концентрации клеток в суспензии. Регуляция бактериальной адгезии с использованием растворов биоцидов может представлять простую и экономичную стратегию борьбы с развитием инфекции области хирургического вмешательства.

Ключевые слова: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, биоплёнки, сетчатый имплантат, полипропилен, полиэстер, биоциды.

The adhesion of *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923 and the clinical strains of *S. aureus*, *S. epidermidis* on monofilament surgical mesh implants — macroporous polyester and microporous polypropylene in combination with biocides was assessed in an *in vitro* experiment. *Staphylococcus* cells adhered to the surface of implant fragments without treatment with biocides within a few hours, and there was no significant effect on the adhesion of the structure or chemical composition of the fiber. Short-term exposure of implants to the solutions of amoxicillin (100 µg/ml) and chlorhexidine (0.5%) led to inhibition of bacterial growth and contamination of the surface for at least two days. In the experiment with vancomycin (100 µg/ml), bacterial cells adhered on the surface of the mesh fragments after 24 h, but their amount was significantly lower than in the control group. It was noted that both implants in combination with chlorhexidine were not contaminated with *S. aureus* bacteria for 2 days under conditions of a high concentration of cells in the suspension. Regulation of bacterial adhesion using biocidal solutions can be a simple and economical strategy to combat the development of infection in the field of surgical intervention.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, biofilms, mesh implant, polypropylene, polyester, biocides.

Введение

Бактерии рода *Staphylococcus* являются наиболее частой причиной инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в том числе, обусловленных использованием катетеров, имплантатов и других внедрённых в организм медицинских устройств [1–3]. Это напрямую зависит от их способности создавать многослойную, хорошо структурированную биоплёнку на искусственных и би-

отических поверхностях. Последние достижения молекулярной биологии обеспечили детальное представление о биоплёнкообразовании стафилококков [4–6]. Формирование биоплёнки начинается с прикрепления клеток бактерий при участии тейхоевых кислот к абиотической поверхности или связывания с белковыми факторами макроорганизма посредством специальных рецепторов, названных MSCRAMM (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules — микробные поверхностные компоненты, распознающие адгезивные молекулы матрикса) [7]. В результате этого взаимодействия экспрессируется

© Коллектив авторов, 2017

*Адрес для корреспонденции: e-mail: mar@iegм.ru

синтез катионного поли-N-ацетилглюкозамина — основного компонента полисахаридного межклеточного адгезина (PIA), и усиливается агрегация клеток. Получены данные об особенностях адгезии и первых этапов образования биоплёнок бактериями *S.aureus* и *S.epidermidis* при изменении физико-химических параметров внешней среды или под действием факторов, влияющих на поверхностные структуры бактериальных клеток [8, 9]. Регулировать бактериальную адгезию пытаются с помощью изменения свойств полимерных материалов, модификации поверхности или путём добавления антибактериальных соединений, что является основной стратегией подавления биоплёнокообразования бактерий [10–12].

Широкое внедрение в современную хирургическую практику синтетических сетчатых имплантатов позволило снизить частоту рецидивов грыж почти на 50% по сравнению с таковой при использовании пластики местными тканями [13]. Однако применение аллотрансплантатов может привести к ряду осложнений. Частота инфекции области хирургического вмешательства (ИОХВ) после герниопластики, в зависимости от вида операции, составляет от 0,3 до 21,5% случаев, среди которых лидирующее место занимают серомы, целлюлит, образование серозных и гнойных свищей [14, 15]. Предоперационное системное применение антибактериальных препаратов является основным методом профилактики ИОХВ, который оправдан в случаях высокого риска инфекционных осложнений [16]. Тем не менее, эта стратегия не может гарантировать абсолютную эффективность, а в ряде случаев, например, в хирургии паховых грыж, является спорным вопросом [17–19]. Кроме того, системное использование антибиотиков может привести к побочным эффектам, а также способствует селекции резистентных штаммов микроорганизмов [20, 21]. К нерешённым проблемам герниологии относится и внедрение имплантатов в условиях компрометированной зоны вмешательства [22]. В связи с этим, новые данные о влиянии биоцидов на бактериальную колонизацию полимерных поверхностей могут стать основой для разработки эффективных способов предупреждения и борьбы с имплант-ассоциированными инфекциями, обусловленными формированием биоплёнок.

Цель работы — оценить адгезию бактерий рода *Staphylococcus* на полиэфировых и полипропиленовых сетчатых имплантатах в комбинации с биоцидами в эксперименте *in vitro*.

Материал и методы

В работе использовали клинические штаммы *S.aureus* ($n=5$) и *S.epidermidis* ($n=4$), изолированные из раневого отделяемого пациентов хирургического стационара ГАУЗ ПК ГКБ №4 г. Перми. Все штаммы были чувствительны к оксацилину и ванкомицину (МУК 4.2.1890-04). Референтный штамм

S.aureus ATCC® 25923 получен из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов ГИСК им Л. А. Тарасевича (сейчас ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, г. Москва).

Исследование проведено на двух хирургических сетчатых монофиламентных имплантатах: макропористый полиэстеровый Parietex™ Lightweight Monofilament Mesh (Medtronic, Ирландия) (удельный вес — 46 г/м², размер пор — 1,5 мм, L-PE) и микропористый полипропиленовый Surgipro™ SPM (Medtronic, Ирландия) (удельный вес — 90 г/м², размер пор — 0,8 мм, H-PP).

Эксперименты по контаминации сетчатых имплантатов стафилококками проводили двумя способами. В первом случае [23] суспензии ночных культур бактерий, стандартизованных до 2,0 по стандарту McFarland и разведённых 1:100 в бульоне Луриа-Бертани (LB-бульон), засеивали газомом (50 мкл) на LB-агар. Фрагменты сетчатых имплантатов ($\approx 10 \times 10$ мм) погружали на 10 мин в 0,89% NaCl (контроль), 0,5% раствор хлоргексидина биглюконата (ХГ), раствор амоксициллина (АМК, 100 мкг/мл) и раствор ванкомицина (ВАН, 100 мкг/мл), после чего удаляли излишки растворов промачиванием фильтровальной бумагой и раскладывали на засеянный газомом LB-агар. Чашки с посевами инкубировали при температуре 37°C в течение 24 ч. Результаты оценивали с учётом зон ингибирования роста (ЗИР) бактерий по коэффициенту, рассчитанному как $S_{ЗИР}/S_{фрагмента}$. Документирование результатов производилось при помощи системы Gel-Doc XR («Bio-Rad», США). Во втором случае фрагменты сетчатых имплантатов в аналогичных вариантах помещали в лунки 24-луночного плоскодонного полистиролового планшета «Corning» (Бельгия) с бактериальной суспензией стандартизированной до 10^6 клеток/мл и инкубировали в течение 6, 24 и 48 ч. Динамику роста микробной популяции контролировали путём измерения оптической плотности клеток на микропланшетном ридере Benchmark Plus (Bio-Rad, США) при длине волны 600 нм. После экспозиции фрагменты сетчатых имплантатов 3-кратно отмывали в 5 мл 0,89% NaCl, погружали в 1,0 мл фосфатно-буферной среды и обрабатывали ультразвуком 5 раз в течение 1 мин при 37 кГц, поместив планшеты в ультразвуковую ванну Elma Ultrasonic 30S (Elma, Германия). Количество жизнеспособных клеток оценивали по числу колониеобразующих единиц (КОЕ/мл) после высева из последовательных десятичных разведений бактериальных суспензий на LB-агар.

В отдельном эксперименте моделировали условия критически высокой обсеменённости области имплантации. Для этого фрагменты имплантатов помещали в лунки 24-луночного плоскодонного полистиролового планшета «Corning» (Бельгия) с бактериальной суспензией, стандартизированной до 10^6 клеток/мл ночной культуры каждого штамма и инкубировали в течение 48 ч. Рост микробной популяции и число адгезированных на поверхности имплантатов клеток оценивали аналогичным образом.

Микроскопию отмытых и предварительно окрашенных 0,1% водным раствором генцианового фиолетового (генциановиолета) фрагментов имплантатов проводили на морфометрической установке «Olympus» (увеличение $\times 200$; $\times 400$, $\times 1000$) с последующим анализом изображений в программе Image PRO+ (free version).

Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи программного обеспечения Microsoft Office Excel 2016 и STATISTICA 10.0. Показатели представлены в виде среднего арифметического и его ошибки ($M \pm m$). Достоверность различий средних величин определяли с помощью *t*-критерия Стьюдента. Достоверность различий средних величин зависимых выборок определяли с помощью *W*-критерия Вилкоксона (*W*-test). Результат считали статистически достоверным при $p < 0,05$.

Результаты исследования

В серии экспериментов на агаризованной среде показано, что без предварительной обработки

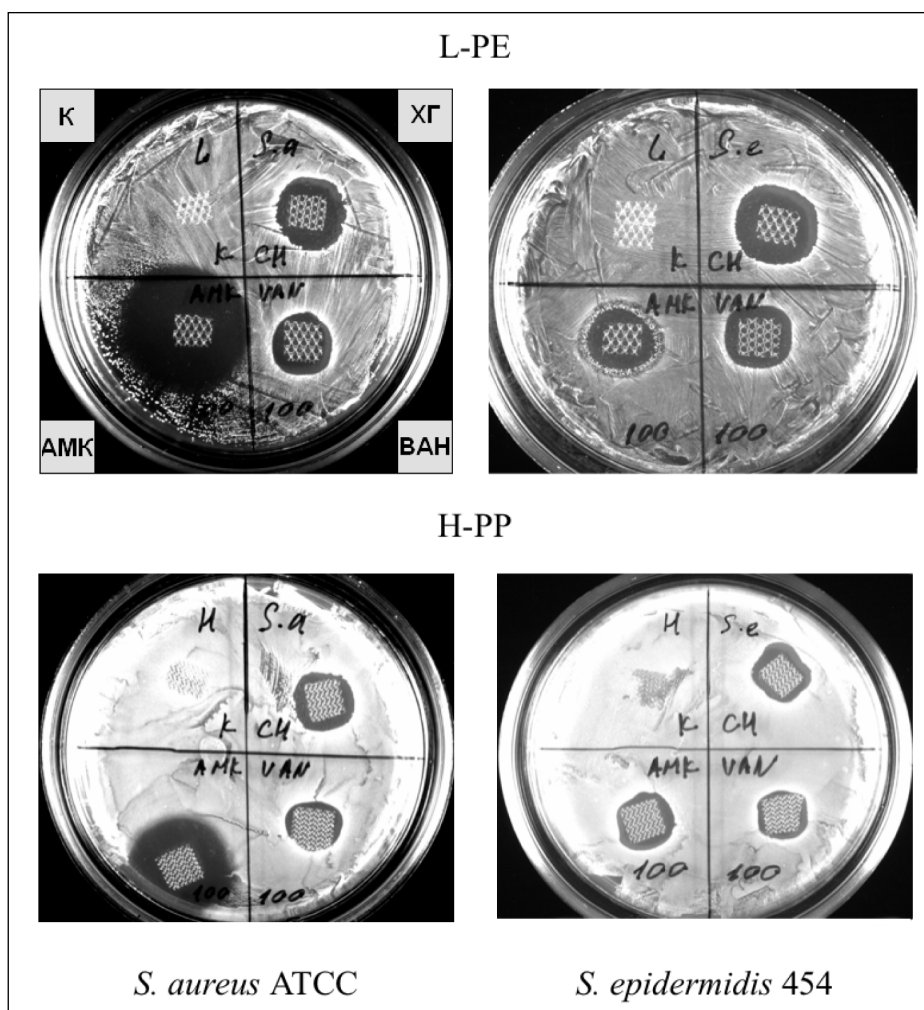


Рис. 1. Зоны ингибирования роста бактериальных культур стафилококков, создаваемые фрагментами сетчатых имплантатов в комбинации с биоцидами: К — 0,89% NaCl (контроль); ХГ — 0,05% хлоргексидина биглюконат; АМК — амоксилав, 100 мкг/мл; ВАН — ванкомицин 100 мкг/мл. Изображения получены с помощью системы Gel-Doc XR («Bio-Rad», США) и являются репрезентативными для каждой исследованной культуры бактерий при 24-часовом газонном росте на LB-агаре.

биоцидами L-PE и H-PP газонный рост культур стафилококков был как вокруг, так и в пределах фрагментов сеток (рис. 1). Для *S.aureus* ATCC® 25923 значение коэффициента k , отражающего

S.aureus и *S.aureus*+*S.epidermidis*, между вариантами ХГ/ВАН для всех групп микроорганизмов. Для имплантата H-PP подавление роста бактерий в обеих группах стафилококков выявлено как в комбина-

степень ингибирования бактериального роста, при использовании сетчатых имплантатов L-PE и H-PP в комбинации с ХГ, АМК и ВАН составило $3,90 \pm 0,62$, $7,99 \pm 1,85$, $1,38 \pm 0,25$ и $3,45 \pm 0,31$, $6,25 \pm 0,34$, $1,44 \pm 0,65$, соответственно.

В табл. 1 представлены сводные данные по коэффициенту k для сетчатых имплантатов L-PE и H-PP в различных вариантах с биоцидами в двух исследованных группах бактерий. Для имплантата L-PE антибактериальный эффект показан в комбинации с ХГ как в отношении *S.aureus* ($k=2,97 \pm 0,73$), так и *S.epidermidis* ($k=2,68 \pm 0,55$), в комбинации с АМК — для всех стафилококков ($k=5,57 \pm 3,73$), *S.aureus* ($k=6,68 \pm 4,11$), но не для *S.epidermidis*. При экспозиции фрагмента L-PE с ВАН коэффициент k был наименьшим и составил $1,35 \pm 0,68$ для группы *S.aureus*, $1,26 \pm 0,78$ для *S.epidermidis* и $1,30 \pm 0,69$ для всех исследованных культур. Для этого имплантата отмечена статистическая разница между вариантами ХГ/АМК и АМК/ВАН в группах

Таблица 1. Коэффициент k для фрагментов сетчатых имплантатов L-PE и H-PP в комбинации с биоцидами

Группа микроорганизмов ¹	Вариант		
	ХГ	АМК	ВАН
L-PE			
<i>S.aureus</i>	$2,97 \pm 0,73^*$	$6,68 \pm 4,11^{*,**}$	$1,35 \pm 0,68^{*,*#}$
<i>S.epidermidis</i>	$2,68 \pm 0,55^*$	$3,72 \pm 2,18$	$1,26 \pm 0,78^{**}$
<i>S.aureus</i> + <i>S.epidermidis</i>	$2,86 \pm 0,67^*$	$5,57 \pm 3,73^{*,**}$	$1,30 \pm 0,69^{*,*#}$
H-PP			
<i>S.aureus</i>	$2,86 \pm 0,40^*$	$3,34 \pm 2,14^*$	$1,75 \pm 0,74^{*,*#}$
<i>S.epidermidis</i>	$2,67 \pm 0,48^*$	$2,77 \pm 0,95^*$	$1,48 \pm 0,44^{*,*#}$
<i>S.aureus</i> + <i>S.epidermidis</i>	$2,79 \pm 0,43^*$	$3,13 \pm 1,79^{*,*#}$	$1,64 \pm 0,64^{*,*#}$

Примечание. ¹ — группа *S.aureus* включала референтный и клинические штаммы ($n=6$), *S.epidermidis* ($n=4$), *S.aureus* + *S.epidermidis* ($n=10$). * — достоверность отличий по отношению к контролю; ** — достоверность отличий по отношению к ХГ; # — достоверность отличий по отношению к АМК; ## — достоверность отличий между L-PE и H-PP в пределах варианта (W-test).

ции с ХГ, так и с АМК, в комбинации с ВАН — только для *S.aureus* ($k=1,75\pm0,74$). Для этого полимера статистическая разница отмечена между ХГ/ВАН, АМК/ВАН во всех группах микроорганизмов. Сравнивая коэффициент k для L-PE и Н-РР в аналогичных вариантах, выявлено, что он был достоверно выше для L-PE в комбинации с АМК в группе всех стафилококков ($5,57\pm3,73$ против $3,13\pm1,79$; $p=0,049$). В комбинации с ХГ и ВАН достоверных отличий между сетчатыми имплантатами не отмечено ни в одной из исследованных групп бактерий.

В экспериментах по адгезии бактерий *S.aureus* ATCC® 25923 и *S.epidermidis* 454 на поверхности имплантатов в суспензионной культуре получены следующие данные. Для L-PE в контроле число адгезированных жизнеспособных клеток золотистого и эпидермального стафилококков на 6 ч составило $7,38E+03\pm4,81E+03$ и $6,07E+04\pm5,94E+04$ КОЕ/мл, соответственно (рис. 2). Через сутки их количество увеличилось до $9,24E+05\pm8,93E+05$ и $5,22E+05\pm2,14E+05$ КОЕ/мл и сохранялось на этом уровне в течение 48 ч, достоверно не отличаясь между культурами во все сроки. Фрагменты сетчатых имплантатов в комбинации с ХГ и АМК в течение 2 сут не были контаминированы бактериями. В варианте с ВАН клетки *S.aureus* и *S.epidermidis* адгезировались на поверхности фрагментов уже через 24 ч ($6,05E+03\pm5,94E+03$ и $1,08E+03\pm0,96E+03$ КОЕ/мл, соответственно), но их количество было достоверно меньше, чем в контроле. Для Н-РР адгезия бактерий зарегистрирована только в группе контроля: число жизнеспособных клеток на 6, 24 и 48 ч составило, соответственно, $3,00E+03\pm2,79E+03$, $1,62E+06\pm2,16E+06$, $1,38E+04\pm1,28E+04$ КОЕ/мл для *S.aureus* и $1,10E+04\pm9,88E+03$, $3,55E+05\pm2,51E+05$, $9,03E+03\pm8,79E+03$ КОЕ/мл для *S.epidermidis* (см. рис. 2). При сравнении двух сетчатых имплантатов

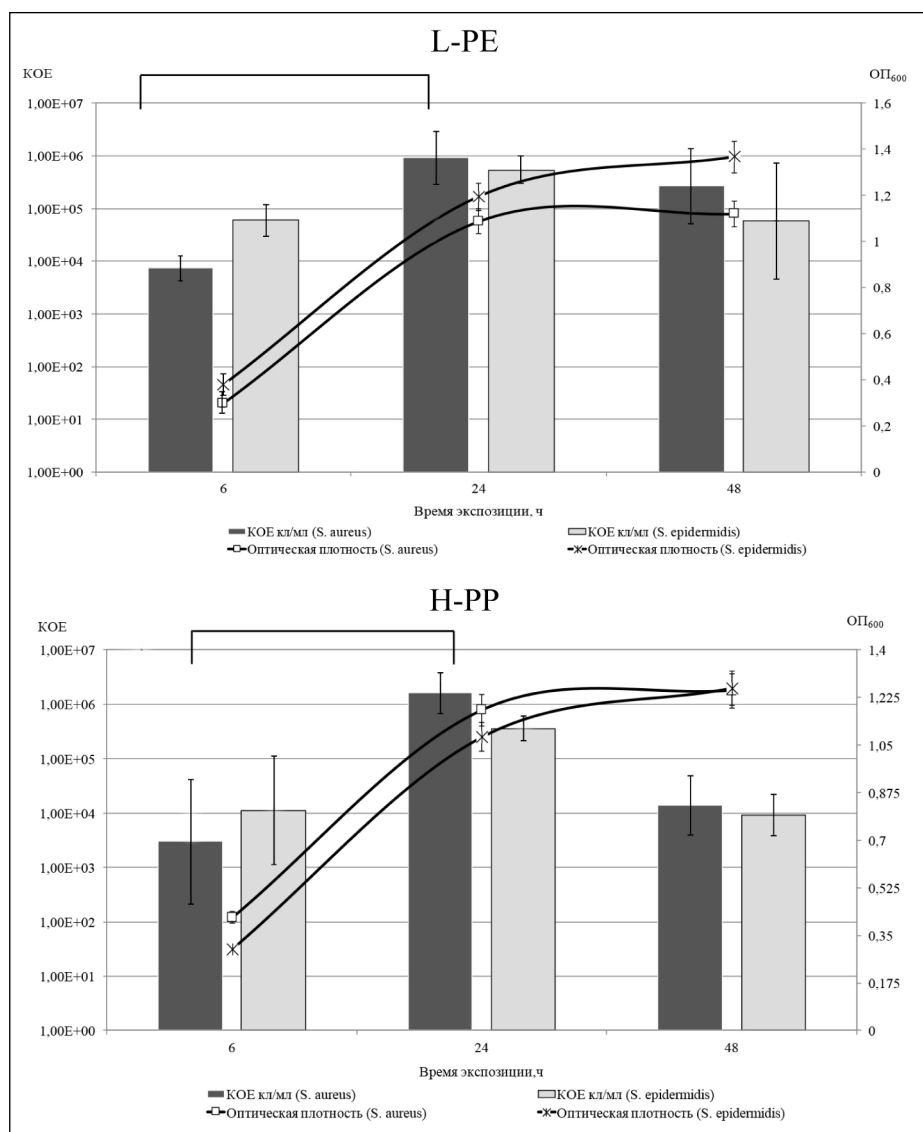


Рис. 2. Рост бактериальных культур *S.aureus* ATCC® 25923, *S.epidermidis* 454 и количество жизнеспособных клеток, адгезированных на поверхности сетчатых имплантатов L-PE и Н-РР без биоцидов.

выявлено, что количество бактерий стафилококков, прикреплённых к поверхности полиэстера (L-PE) и полипропилена (Н-РР), на всех сроках статистически не различалось. Необходимо отметить, что для *S.aureus* плотность бактериальной суспензии в динамике нарастала только в контрольном варианте ($1,120\pm0,065$ и $1,250\pm0,097$ ед. ОП₆₀₀, соответственно, для L-PE и Н-РР) и в варианте с ВАН (до $0,739\pm0,074$ ед. ОП₆₀₀ для L-PE). Для *S.epidermidis* плотность микробной популяции в контроле достигала $1,366\pm0,345$ и $1,260\pm0,103$ ед. ОП₆₀₀, соответственно, для L-PE и Н-РР, а в варианте с ВАН она составила $0,280\pm0,043$ ед. ОП₆₀₀ для L-PE.

При моделировании условий высокого бактериального обсеменения не был использован ВАН, так как он более активен в отношении бак-

Таблица 2. Плотность бактериальной суспензии и количество жизнеспособных клеток, адгезированных на поверхности сетчатых имплантатов L-PE и H-PP в комбинации с биоцидами (моделирование условий высокой обсемененности)

Штамм	Вариант	Время экспозиции, ч					
		6		24		48	
		ОП600	КОЕ	ОП600	КОЕ	КОЕ	ОП600
		L-PE					
<i>S.aureus</i>	Контроль	0,866±0,074	6,93E+04±6,55E+04	1,291±0,987	3,49E+06±7,45E+04	1,482±0,984	4,76E+04±4,27E+04
	ХГ	0,098±0,016*	0,00E+00*	0,103±0,045*	0,00E+00*	0,243±0,014*	0,00E+00*
	АМК	0,150±0,090*	6,00E+02±6,58E+03*	0,108±0,078*	7,00E+02±6,54E+02*	0,189±0,104*	3,70E+03±4,50E+03
<i>S.epidermidis</i>	Контроль	0,487±0,098	1,54E+04±6,58E+03	0,779±0,421	3,05E+05±6,21E+05	1,163±0,067	4,18E+05±3,67E+05
	ХГ	0,075±0,011*	0,00E+00*	0,392±0,056*	3,22E+05±3,72E+05	0,753±0,115*	3,70E+03±2,60E+03
	АМК	0,308±0,079	6,38E+02±3,36E+02*	0,344±0,012*	1,51E+04±1,99E+04	0,287±0,069*	1,10E+03±9,00E+02
		H-PP					
<i>S.aureus</i>	Контроль	0,769±0,103	2,95E+05±4,13E+05	1,566±0,121	1,43E+06±1,19E+06	1,539±0,506	2,10E+04±1,98E+04
	ХГ	0,113±0,056*	0,00E+00*	0,120±0,019*	0,00E+00*	0,138±0,016*	0,00E+00*
	АМК	0,104±0,010*	0,00E+00*	0,164±0,067*	3,33E+02±9,43E+01*	0,178±0,101*	4,00E+02±2,30E+02*
<i>S.epidermidis</i>	Контроль	0,578±0,211	2,11E+05±2,88E+05	1,3660,789±	1,37E+04±7,55E+03	1,386±0,456	1,06E+05±9,80E+04
	ХГ	0,105±0,018*	0,00E+00*	0,044±0,008*	0,00E+00*	0,081±0,067*	0,00E+00*
	АМК	0,238±0,098*	1,39E+03±1,26E+03*	0,282±0,046*	4,70E+05±6,64E+05	0,289±0,111*	2,09E+05±2,01E+05

Примечание. * – достоверность отличий по отношению к соответствующему контролю.

териальной популяции в экспоненциальной фазе роста. Суммарные результаты экспериментов представлены в табл. 2. В комбинации обоих имплантатов с ХГ отмечена устойчивость к колонизации бактерий в течение 48 ч, за исключением варианта с использованием L-PE и суспензии *S.epidermidis* 454. Эффективность АМК в данных условиях оказалась существенно снижена: клетки стафилококков адгезировались на поверхности L-PE и H-PP уже через 6 ч экспозиции, кроме варианта H-PP + *S.aureus*. При этом необходимо отметить, что плотность бактериальной суспензии, как и число жизнеспособных клеток, образующих биоплёнку на поверхности имплантатов, оказались достоверно ниже, чем в контроле.

Наличие биоплёнки на поверхности имплантатов L-PE и H-PP после их экспозиции в бактериальной суспензии было подтверждено данными микроскопии (рис. 3). Выявлено, что и макропористый, и микропористый сетчатые имплантаты без предварительной обработки биоцидами подвергаются контаминации бактериями *Staphylococcus*. К 6 ч обнаруживаются либо единичные клетки, либо небольшие кластеры размножающихся клеток, через 24 ч на обоих имплантатах детектировали обширные участки атакованной бактериями поверхности (рис. 3, б, е). К 48 ч бактериальная биоплёнка покрывала значительную площадь волокна (рис. 3, г, з, в, жс).

Обсуждение результатов

Бактериальная адгезия к поверхности внедрённого материала является ключевым этапом развития имплант-ассоциированной инфекции. Формирование биоплёнки на полимере и колонизация тканей перипротезной зоны ставят под угрозу эффективность системного лечения антибиотиками, а, в ряде случаев, единственной альтернативой становится частичное или полное удаление контаминированного имплантата, что увеличивает сроки выздоровления пациента и стоимость лечения [18, 22]. В связи с этим, покрытие имплантата антимикробным препаратом представляет подходящую стратегию контроля бактериальной адгезии к поверхности материала [11, 24]. В клинической практике ряда стран предложено непосредственно перед использованием пропитывать или опускать имплантат в раствор антибиотиков, таких как гентамицин или ванкомицин [25, 26]. Однако эффективность данного способа для снижения риска бактериальных осложнений окончательно не доказана и тестирование новых материалов и различных биоцидов проводится постоянно [12, 23, 27].

В представленном экспериментальном исследовании *in vitro* оценена адгезия и биоплёнокообразование бактерий рода *Staphylococcus* на хирургических сетчатых имплантатах без обработ-

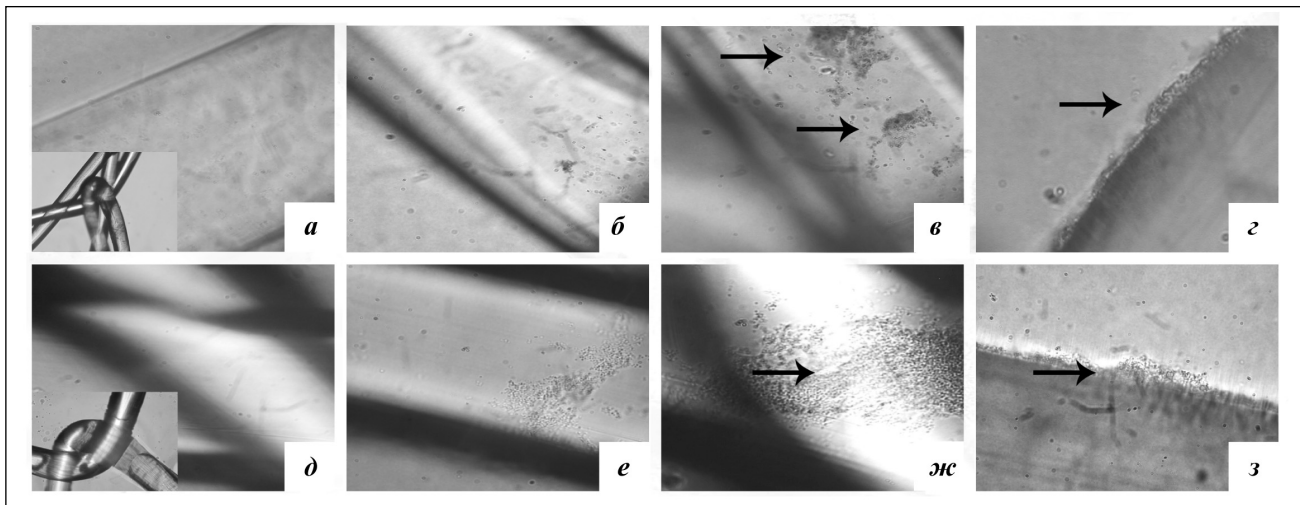


Рис. 3. Изображение биоплёнки, сформированной *S.aureus* ATCC® 25923 на поверхности имплантатов L-PE (верх) и H-PP (низ): а, д — интактный сетчатый имплантат (контроль) (увеличение $\times 400$); б, е — имплантат после экспозиции с бактериальной суспензией 24 ч ($\times 400$); в, ж — биоплёнка (указана стрелкой) на поверхности имплантата после экспозиции с бактериальной суспензией 48 ч ($\times 400$); г, з — биоплёнка (указана стрелкой) на поверхности имплантата после экспозиции с бактериальной суспензией 48 ч ($\times 1000$). Окраска препарата — 0,1% генцианвиолет в течение 2 мин.

ки и в комбинации с биоцидами. В исследовании D. L. Sanders и соавт. (2013) доказано, что для развития ИОХВ достаточно бактериальной нагрузки 10^2 клеток/мл [28]. В экспериментах по моделированию условий бактериального обсеменения мы использовали концентрацию бактерий, значительно её превышающую (10^6 и 10^8 клеток/мл), так как подобная модель является обычной практикой для изучения бактериальной адгезии *in vitro*. В качестве образцов выбраны два наиболее часто используемых в хирургической практике имплантата — макропористая лёгкая сетка из полиэстера и микропористая тяжёлая сетка из полипропилена. Оба имплантата являются монофиламентными, что обеспечивает меньшую площадь контактной поверхности по сравнению с полифиламентным волокном [29]. В качестве биоцидов были взяты два антибиотика (ингибиторозащищённый широкого спектра действия — амоксилав, активный в отношении продуцирующих пенициллиназу стафилококков, и ванкомицин, активный в отношении изолятов, резистентных к метициллину), а также антисептический препарат хлоргексидин.

Предварительные результаты, полученные на агаризованной среде, подтвердили антибактериальный эффект всех протестированных биоцидов, «сохранённых» на поверхности двух типов имплантатов. Как и следовало ожидать, при данной постановке эксперимента решающим фактором являлся размер пор фрагмента сетки. Так, коэффициент k , характеризующий степень ингибирования роста бактерий, для L-PE и H-PP в аналогичных вариантах был достоверно выше для

L-PE в комбинации с АМК в группе всех стафилококков, и, хотя в комбинации с ХГ статистически значимо не различался, тенденция была аналогичной. Полученные результаты можно объяснить тем, что большие поры L-PE «удерживали» большее количество раствора биоцида, который затем диффундировал в агар. Интересно, что в отношении ВАН отмечен противоположный эффект — коэффициент k был выше для H-PP, что, учитывая низкую растворимость данного антибиотика, могло быть связано с большим количеством фиксированных крупнодисперсных частиц на тяжёлом имплантате.

По данным литературы, показано, что площадь поверхности и структура сетчатого имплантата являются существенными факторами в адгезии бактерий на его поверхности. Большой диаметр нити и малый размер пор (тяжёлые сетчатые имплантаты) статистически значимо увеличивают количество адгезированных к полимеру клеток [10]. Кроме того, известно, что определяющими факторами адгезии являются химический состав и гидрофобность атакованной поверхности [11, 26]. При этом бактерии с гидрофобными свойствами клеточной стенки, к которым относятся и стафилококки, лучше адгезируются на гидрофобных материалах [9, 30]. Учитывая, что L-PE — это углеродный полимер терефталевой кислоты, обладающий гидрофильными свойствами, а H-PP — гидрофобный термопластичный неполярным полимер, принадлежащий к классу полиолефинов, можно было ожидать существенную разницу в адгезии бактерий. Результаты микроскопии имплантатов показали, что нити тяжёлого H-PP без

обработки биоцидами были практически полностью покрыты биоплёнкой *S.aureus* после 48 ч экспозиции фрагмента в бактериальной суспензии, тогда как площадь атакованной бактериями поверхности L-PE была не существенно, но меньше (рис. 2). Возможно, именно с гидрофобностью связана тенденция к более выраженному прикреплению стафилококков к Н-РР на меньшем сроке экспозиции имплантатов в бактериальной суспензии с высокой концентрацией клеток (табл. 2). При этом оценка числа адгезированных жизнеспособных клеток на 24 и 48 ч, а также в суспензии растущих клеток в низкой концентрации во все сроки показала, что статистически значимых отличий между L-PE и Н-РР выявлено не было. S. Demireg и соавт. (2001) также не обнаружили существенной разницы в уровне адгезии *S.epidermidis* на различных материалах имплантатов, включая полипропиленовые и полиэстеровые волокна [31]. При этом другие исследователи отмечают, что в экспериментах с различными типами имплантатов плотность бактерий *S.epidermidis* в биоплёнках на полипропиленовых волокнах была меньше [32]. В. Gungor и соавт. (2010) показали, что количество клеток *S.aureus*, фиксированных к полиэстеровому волокну, через 16 ч экспозиции было больше в разы, чем к полипропилену [33].

Представители различных видов и даже штаммы одного вида бактерий могут связываться с поверхностью из одного и того же материала с разной степенью активности [32]. По данным К. Aydinuraz и соавт. (2009), и золотистый и эпидермальный стафилококки (в условиях высокой концентрации бактерий, 10^8 клеток/мл) прикреплялись к монофиламентному полипропиленовому трансплантату в меньшей степени, чем к композитным волокнам. При этом *S.epidermidis* показал меньшую адгезию к монофиламентному полипропиленовому трансплантату по сравнению с *S.aureus* [34]. В данном исследовании за исключением контрольного варианта Н-РР через 24 ч экспозиции, достоверных отличий по адгезии клеток двух представителей стафилококков не выявлено.

В работе также выявлено ингибирование адгезии бактерий на поверхности фрагментов имплантатов при их кратковременной экспозиции с биоцидами во всех экспериментах с суспензионной культурой. Выраженное подавление продемонстрировано при низкой плотности бактерий (что более приближено к ситуации *in vivo*) в вариантах с АМК и ХГ для обоих имплантатов и двух культур стафилококков. В варианте с ВАН клетки *S.aureus* и *S.epidermidis* адгезировались на поверхности сетчатых фрагментов уже через сутки, но их количество было достоверно меньше, чем в контроле. По-видимому, концентрация антибиотика оказалась недостаточной для ингибирования рос-

та бактерий, который сопровождается сдвигом рН в кислую сторону, тогда как оптимум рН действия ванкомицина — 8,0, и снижение до 6,0 резко уменьшает его эффект. Интересно, что в рандомизированном проспективном исследовании Н. Yabanoglu и соавт. (2015) показано, что замачивание монофиламентной синтетической полипропиленовой сетки в растворе ванкомицина в концентрации 10 мг/мл не привело к снижению случаев имплант-ассоциированной инфекции [35]. Авторы объясняют это нетривиальным спектром выделенных при гнойных осложнениях микроорганизмов, в котором преобладали грамотрицательные бактерии.

Использование синтетических сетчатых имплантатов в герниологии имеет решающее значение, когда есть предпосылки контаминирования зоны ремонта, например, при дефектах брюшной стенки, ущемленных грыжах, проколах кишечных сегментов или при открытой травме живота. Некоторые авторы считают, что применение имплантатов для закрытия дефектов брюшной стенки в условиях инфицирования возможно и оправдано по строгим показаниям [10, 14]. Примечательно, что при использовании бактериальной суспензии высокой плотности контаминация обоих имплантатов в варианте с ХГ для *S.aureus* не выявлена в течение 2 сут. Эффективность амоксиклава в данных условиях оказалась существенно снижена, что может быть связано с эффектом инокулюма, когда повышение плотности бактериальной популяции приводит к значительному снижению активности антибактериального вещества.

При выборе антимикробного агента для обработки сетчатого имплантата важно найти баланс между его эффективностью и токсичностью. При этом необходимо помнить, что в результате воздействия антибиотиков в субингибирующих концентрациях могут быть существенно изменены гидрофобность клеточной поверхности [36] и адгезивность бактерий [37]. Антибактериальные препараты, такие как амоксилав и ванкомицин, показавшие в выбранной концентрации антибактериальные эффекты в отношении золотистого и эпидермального стафилококков, в то же время являются нетоксичными для клеток организма. Однако нужно учитывать, что широкое использование антибиотиков для профилактики ИОХВ может привести к росту количества резистентных штаммов, поэтому применение антибиотиков для обработки имплантатов должно быть ограничено [38]. В этом отношении преимущество использования хлоргексидина обусловлено дешевизной, высокой активностью в отношении различных видов микроорганизмов и отсутствием у них резистентности к препарату [39]. Возможное токсическое действие антисептика на эукариотические клетки может быть нивелировано циклическими

олигосахаридами (циклодекстрин) [40] или аллицином [23], которые могут даже усиливать его антибактериальный эффект.

Заключение

Многочисленные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что образование биоплёнки представляет собой универсальный механизм контаминации, который может быть реализован на различных имплантатах. Адгезия микроорганизмов является ключевым этапом «загрязнения» поверхности полимеров, проходит неспецифическую и специфическую фазы и высокочувствительна к внешним факторам. Поэтому одной из альтернатив системной антибиотикопрофилактики имплант-ассоциированной инфекции может быть местное использование биоцидов путём кратковременного погружения имплантата в раствор антибиотика/антисептика перед установкой, что предотвратит как его контаминацию бактериями, так и окружающих тканей в операционном и раннем послеоперационном периодах.

ЛИТЕРАТУРА

- McCann M.T., Gilmore B.F., Gorman S.P. *Staphylococcus epidermidis* device-related infections: pathogenesis and clinical management. *J Pharm Pharmacol* 2008; 60: 1551–1571.
- Belkum A. Staphylococcal colonization and infection: homeostasis versus disbalance of human (innate) immunity and bacterial virulence. *Curr Opin Infect Dis* 2006; 19: 339–344.
- Edmiston C.E., McBain A.J., Kiernan M., Leaper D.J. A narrative review of microbial biofilm in postoperative surgical site infections: clinical presentation and treatment. *J Wound Care* 2016; 25: 693–702.
- Otto M. Staphylococcal biofilms. *Curr Top Microbiol Immunol* 2008; 322: 207–228.
- Foster T.J., Geoghegan J.A., Ganesh V.K., Hook M. Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*. *Nat Rev Microbiol* 2014; 12: 49–62.
- Маянский А.Н., Чеботарь И.В. Стафилококковые биоплёнки: структура, регуляция, отторжение. *Журн. Микробиол.* — 2011. — №1. — С.101–108. / Mayanskij A.N., Chebotar' I.V. Stafilokokkovye bioplenki: struktura, regulaciya, ottorzhenie. *Zhurn. Mikrobiol* 2011, 1: 101–108. [in Russian]
- Clarke S.R., Foster S.J. Surface adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Adv Microb Physiol* 2006; 51: 187–224.
- Ерошенко Д.В., Лемкина Л.М., Коробов В.П. Адгезия бактерий *Staphylococcus epidermidis* 33 при действии некоторых физико-химических факторов среды. *Вестник Пермского университета. Биология.* — 2012. — № 1. — С.29–33 / Eroshenko D.V., Lemkina L.M., Korobov V.P. Adgeziya bakterij *Staphylococcus epidermidis* 33 pri dejstvii nekotoryh fiziko-himicheskikh faktorov sredy. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologiya* 2012, 1: 29–33. [in Russian]
- Pagedar A., Singh J., Batish V.K. Surface hydrophobicity, nutritional contents affect *Staphylococcus aureus* biofilms and temperature influences its survival in preformed biofilms. *Journal of Basic Microbiology* 2010; 50: S98–S106.
- Sanders D., Lambie J., Bond P., Moate R., Steer J.A. An *in vitro* study assessing the effect of mesh morphology and suture fixation on bacterial adherence. *Hernia* 2013; 17 (6): 779–789.
- Ji J., Zhang W. Bacterial behaviors on polymer surfaces with organic and inorganic antimicrobial compounds. *J Biomed Mater Res A* 2009; 88 (2): 448–453.
- Hook A.L., Chang C., Yang J., Luckett J., Cockayne A., Atkinson S. et al. Combinatorial discovery of polymers resistant to bacterial attachment. *Nat Biotechnol* 2012; 30 (9): 868–875.
- Bay-Nielsen M., Kehlet H., Strand L., Malmström J., Andersen F.H., Wara P. et al. Quality assessment of 26 304 herniorrhaphies in Denmark: a prospective nationwide study. *The Lancet* 2001; 358 (9288): 1124–1128.
- Выполненное экспериментальное исследование показало, что клетки *S.aureus* и *S.epidermidis* адгезируются на поверхности различных по структуре хирургических сетчатых имплантатов, не обработанных биоцидами, уже через несколько часов. При этом не выявлено существенного влияния на бактериальную адгезию протезной нагрузки или химического состава волокна. Учитывая, что кратковременная экспозиция имплантатов в растворах биоцидов приводит к ингибированию роста и контаминации поверхности как минимум в течение двух суток, регуляция бактериальной адгезии с использованием антибактериальных соединений может представлять простую и экономичную стратегию борьбы для снижения риска развития протезной хирургической инфекции.
- Авторы выражают благодарность заведующей отдела учебно-методического и научного обеспечения ПГМУ имени академика Е. А. Вагнера, к.б.н. Чемурзиевой Н. В. за помощь в проведении микроскопии препаратов.
- Cobb W.S., Carbonell A.M., Kalbaugh C.L., Jones Y., Lokey J.S. Infection risk of open placement of intraperitoneal composite mesh. *Am Surg* 2009; 75: 762–768.
- Baucum R.B., Ousley J., Oyefule O.O., Stewart M.K., Phillips S.E., Browman K.K. et al. Evaluation of long-term surgical site occurrences in ventral hernia repair: implications of preoperative site independent MRSA infection. *Hernia* 2016; 20 (5): 701–710.
- Saygun O., Agalar C., Aydinuraz K., Agalar F., Daphan C., Saygun M. et al. Gold and gold-palladium coated polypropylene grafts in a *S.epidermidis* wound infection model. *J Surg Res* 2006; 131: 73–79.
- Aufenacker T.J., van Geldere D., van Mesdag T., Bossers A.N., Dekker B., Scheijde E. et al. The role of antibiotic prophylaxis in prevention of wound infection after Lichtenstein open mesh repair of primary inguinal hernia: a multicenter double-blind randomized controlled trial. *Ann Surg* 2004; 240: 955–960.
- Sánchez-Manuel F.J., Lozano-García J., Seco-Gil J.L. Antibiotic prophylaxis for hernia repair. *Cochrane Database Syst Rev* 2004; 4: CD003769.
- Hosseini M., Heidari A. Evaluation of prophylactic antibiotic prescription in post-operative infection in patients undergone inguinal herniorrhaphy surgery with prolene mesh: a randomized double blind study. *Surgery Journal* 2011; 6 (2): 21–25.
- Гостев В.В., Калиногорская О.С., Круглов А.Н., Сидоренко С.В. Антибиотикорезистентность коагулазоотрицательных стафилококков, выделенных в стационарах Санкт-Петербурга и Москвы. Антибиотики и химиотер. — 2015. — Т. 60. — № 9-10. — С.23–28. / Gostev V.V., Kalinogorskaya O.S., Kruglov A.N., Sidorenko S.V. Antibiotikorezistentnost' koagulazootricatel'nykh stafilokokkov, vydelennykh v stacionarah Sankt-Peterburga i Moskvy. *Antibiotiki i khimioter* 2015; 60 (9–10): 23–28. [in Russian]
- Козлов П.С. Селекция резистентных микроорганизмов при использовании антимикробных препаратов: концепция «параллельного ущерба». Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2010. — Т. 12. — № 4. — С. 284–294. / Kozlov P.S. Selekcija rezistentnykh mikroorganizmov pri ispol'zovanii antimikrobnnykh preparatov: koncepcija «parallel'nogo usherba». *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya* 2010, 12 (4): 284–294. [in Russian]
- Паршиков В.В., Ходак В.А., Самсонов А.А., Градусов В.П., Романов Р.В. Применение ненавязной пластики брюшной стенки и синтетических имплантатов в условиях бактериальной контаминации. Рана и раневые инфекции. Журнал им. проф. Б.М. Костюченка. — 2014. № 2. — С. 9–15. / Parshikov V.V., Hodak V.A., Samsonov A.A., Gradusov V.P., Romanov R.V. Primenenie nenatjazhnoj plastiki bryushnoj stenki i sinteticheskikh implantatov v usloviyah bakterial'noj kontaminacii. *Rana i ranevyje infekcii. Zhurnal im. prof. B.M. Kostyuchenka* 2014; 2: 9–15. [in Russian]
- Pérez-Köhler B., García-Moreno F., Bayon Y., Pascual G., Bellón J.M. Inhibition of *Staphylococcus aureus* adhesion to the surface of a reticular heavyweight polypropylene mesh soaked in a combination of

chlorhexidine and allicin: an *in vitro* study. PLOS ONE 2015; 10 (5): e0126711 19 pp.

24. Lakshmi S., Kumar S.S., Jayakrishnan A. Bacterial adhesion onto azidated poly (vinyl chloride) surfaces. J Biomed Mater Res 2002; 61 (1): 26–32.
25. Wiegner A., Sinha B., Spor L., Klinge U., Steger U., Germer C.T. et al. Gentamicin for prevention of intraoperative mesh contamination: demonstration of high bactericidal effect (*in vitro*) and low systemic bioavailability (*in vivo*). Hernia 2014; 18: 691–700.
26. Deysine M. Infection control in a hernia clinic: 24 year results of aseptic and antiseptic measure implementation in 4,620 «clean cases». Hernia 2006; 10: 25–29.
27. Sadava E.E., Krpata D.M., Gao Y., Novitsky Y.W., Rosen M.J. Does pre-soaking synthetic mesh in antibiotic solution reduce mesh infections? An experimental study. J Gastrointest Surg 2013; 17: 562–568.
28. Sanders D.L., Kingsnorth A.N., Lambie J., Bond P., Moate R., Steer J.A. An experimental study exploring the relationship between the size of bacterial inoculum and bacterial adherence to prosthetic mesh. Surg Endosc 2013; 27: 978–985.
29. Klinge U., Junge K., Spellerberg B., Piroth C., Klosterhalfen B., Schumpelick V. Do multifilament alloplastic meshes increase the infection rate? Analysis of the polymeric surface, the bacteria adherence, and the *in vivo* consequences in a rat model. J Biomed Mater Res 2002; 63 (6): 765–771.
30. Van Loosdrecht M.C.M., Lyklema J., Norde W., Schraa G., Zehnder A.J.B. The role of bacterial cell wall hydrophobicity in adhesion. Appl. Environ. Microbiol 1987; 53 (8): 1893–1897.
31. Demirer S., Geçim I.E., Aydinuraz K., Ataoğlu H., Yerdel M.A., Kuterdem E. Affinity of *Staphylococcus epidermidis* to various prosthetic graft materials. J Surg Res 2001; 99 (1): 70–74.
32. Паршиков В.В., Чеботарь И.В., Ходак В.А., Самсонов А.А. Исследование *in vitro* микробной биопленки на поверхности синтетических макропористых имплантатов для пластики брюшной стенки. Современные технологии в медицине. — 2012. — № 1. — С. 15–20. / Parshikov V.V., Chebotar' I.V., Hodak V.A., Samsonov A.A. Issledovanie *in vitro* mikrobnoj bioplenki na poverhnosti sinteticheskikh makroporistykh implantatov dlya plastiki bryushnoj stenki. Sovremennye tekhnologii v medicine 2012; 1: 15–20. [in Russian]
33. Gungor B., Esen Ş., Gök A., Yılmaz H., Malazgirt Z., Leblebicioğlu H. Comparison of the adherence of *E.coli* and *S.aureus* to ten different prosthetic mesh grafts: *In vitro* experimental study. Indian J Surg 2010; 72: 226–231.
34. Aydinuraz K., Ağalar C., Ağalar F., Ceken S., Duruyürek N., Vural T. *In vitro* *S.epidermidis* and *S.aureus* adherence to composite and lightweight polypropylene grafts. J Surg Res 2009; 157 (1): e79–86.
35. Yabanoğlu H., Arer I.M., Caliskan K. The effect of the use of synthetic mesh soaked in antibiotic solution on the rate of graft infection in ventral hernias: a prospective randomized study. Int Surg 2015; 100: 1040–1047.
36. Absalom D.R. The role of bacterial hydrophobicity in infection: bacterial adhesion and phagocytic ingestion. Can J. Microbiol 1988; 34 (3): 287–298.
37. Balotesu C., Israil A.M., Lazăr V., Cernat R., Petrache L.M., Dinu C. Study of antibiotic influence on adherence capacity of gram positive and gram negative bacteria to the cellular substrate Bacteriol Virusol Parazitol Epidemiol 2002; 47 (3–4): 131–135.
38. Holmes N.E., Tong S.Y., Davis J.S., Hal S.J. Treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Vancomycin and beyond. Semin Respir Crit Care Med 2015; 36: 17–30.
39. Зверьков А.В., Зузова А.П. Хлоргексидин: прошлое, настоящее и будущее одного из основных антисептиков. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2013. — Т. 15. — № 4. — С. 279–285. / Zver'kov A.V., Zuzova A.P. Hlorgeksidin: proshloe, nastoyashchee i budushchee odnogo iz osnovnykh antiseptikov. Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya 2013; 15 (4): 279–285. [in Russian]
40. Teixeira K., Denadai A.M., Sinisterra R.D., Cortqés M.E. Cyclodextrin modulates the cytotoxic effects of chlorhexidine on microorganisms and cells *in vitro*. Drug Deliv 2014; 22 (3): 444–453.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Кузнецова Марина Валентиновна — д. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии ИЭГМ УрО РАН, доцент кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «ПГМУ им. академика Е. А. Вагнера» Минздрава РФ, Пермь

Паршаков Александр Андреевич — аспирант кафедры общей хирургии №1 ФГБОУ ВО «ПГМУ им. академика Е. А. Вагнера» Минздрава РФ, Пермь

Афанасьевская Елизавета Викторовна — к. м. н., доцент кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «ПГМУ им. академика Е. А. Вагнера» Минздрава РФ, Пермь

Самарцев Владимир Аркадьевич — д. м. н., профессор, заведующий кафедрой общей хирургии №1 ФГБОУ ВО «ПГМУ им. академика Е. А. Вагнера» Минздрава РФ, Пермь

Оценка эффективности комбинации риамиловира и осельтамивира на модели экспериментальной гриппозной инфекции мышей

*И. Н. ФАЛЫНСКАЯ¹, И. А. ЛЕНЬОВА¹, О. В. МАКАРОВА, Н. Р. МАХМУДОВА¹,
Е. А. ГЛУБОКОВА¹, Н. П. КАРТАШОВА¹, В. А. МХИТАРОВ, Д. Ш. ДЖАЛИЛОВА

¹ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва

² НИИ морфологии человека, Москва

Evaluation of the Efficacy of Riamilovir and Oseltamivir Combination on the Experimental Model of Mice Influenza Infection

* I. N. FALYNSKOVA¹, I. A. LENYOVA¹, O. V. MAKAROVA², N. R. MAKHMUDOVA¹,
E. A. GLUBOKOVA¹, N. P. KARTASHOVA¹, V. A. MKHITAROV², D. SH. DZHALILOVA²

¹ I. I. Mechnikov Scientific Research Institute of Vaccines and Serums, Moscow

² Research Institute of Human Morphology, Moscow

Риамиловир («Триазавирин®») — оригинальный российский препарат семейства азолоазинов, аналог пуринового нуклеотида (гуанозина), относится к ингибиторам синтеза вирусных РНК и репликации геномных фрагментов. Препарат обладает широким спектром противовирусной активности, эффективен для ряда острых респираторных вирусных инфекций, в том числе гриппа А и В, и включён в клинические рекомендации для лечения гриппа у взрослых. Цель работы — изучение на модели вирусной гриппозной пневмонии мышей эффективности комбинации риамиловира и осельтамивира при различных дозах. Эффективность препаратов оценивали по увеличению выживаемости и снижению потери массы тела мышей, изменению титра вируса в лёгких, морфологическому состоянию лёгких, а также увеличению продолжительности жизни животных по сравнению с контрольными животными, не получавшими лечения. В экспериментальной модели вирусной гриппозной пневмонии мышей в двух опытах с низкой и высокой дозами заражения, с использованием клинических, вирусологических и морфологических параметров показано, что комбинация риамиловира в дозах 12,5 или 25 мг/кг/день с осельтамивиром в дозе 5 мг/кг/день позволяет повысить эффективность лечения по сравнению с эффективностью лечения каждым препаратом в соответствующей дозе и по соответствующей схеме в отдельности. Данное лечение статистически значимо снижало гибель животных, предотвращало потерю ими массы тела и увеличивало продолжительность жизни по сравнению с контрольной группой животных, не получавших лечение. Комбинация риамиловира в дозе 12,5 мг/кг/день с осельтамивиром оказывала терапевтический эффект на морфологическое состояние лёгких. Кроме того, указанные комбинации препаратов при заражении низкой дозой вируса статистически значимо снижали размножение вируса в лёгких животных, а при высокой дозе заражения подавляли размножение вируса полностью.

Ключевые слова: вирус гриппа, противовирусные препараты, риамиловир, осельтамивир, комбинированное действие.

Riamilovir (Triazavirin®) is an original Russian preparation of the azoloazine family, an analogue of the purine nucleoside (guanosine), it belongs to inhibitors of the synthesis of viral RNAs and replicators of genomic fragments. The drug has a wide spectrum of antiviral activity, is effective for a number of acute respiratory viral infections, including influenza A and B, and is included in clinical recommendations for treatment of influenza in adults. The aim of this work is to study the efficacy of a combination of riamilovir and oseltamivir in different doses on a model of viral influenza pneumonia in mice. The efficacy of the drugs was evaluated by increasing the survival rate and reducing the loss of body weight of mice, changing the titer of the virus in the lungs, the morphological state of the lungs, and also increasing the life span of animals compared to control animals that were not treated. In the experimental model of viral influenza pneumonia in mice in two experiments with low and high doses of infection showed with the use of clinical, virological, and morphological parameters that the combination of riamilovir in doses of 12.5 or 25 mg/kg/day with oseltamivir at a dose of 5 mg/kg/day makes it possible to increase the effectiveness of treatment compared to the effectiveness of separate treatment with each drug in the appropriate dose and according to the corresponding scheme. This treatment showed a statistically significant reduction in animal mortality, prevented their loss of body weight, and prolonged life expectancy compared to the control group of animals that did not receive treatment. The combination of riamilovir at a dose of 12.5 mg/kg/day with oseltamivir had a therapeutic effect on the morphological state of the lungs. Furthermore, said combinations of drugs significantly reduced the multiplication of the virus in the lungs of animals when infected with a low dose of the virus and suppressed the reproduction of the virus completely at a high dose of infection.

Keywords: influenza virus, antiviral drugs, riamilovir, oseltamivir, combined action.

© Коллектив авторов, 2018

*Адрес для корреспонденции: E-mail: falynskova@mail.ru

Список сокращений

MDCK (Madin-Darby Canine Kidney) — культура клеток почки собаки
МЕМ — минимальная среда Игла
МЛД₅₀ и МЛД₉₀ — мышинные летальные дозы
ФСБ — фосфатно-солевой буфер
ЦПД — цитопатическое действие
ТЦИД₅₀ — тканевая цитопатическая инфекционная доза 50
СПЖ — средняя продолжительность жизни
Р/р — объёмная плотность: отношение площади объекта к общей площади среза

Введение

Один из подходов для увеличения эффективности химиопрепарата против вирусной инфекции — использование его в комбинации с другим препаратом. Преимущества комбинированной терапии заключаются в возможности использования более низких доз препаратов, что позволяет повысить их эффективность и снизить побочные эффекты [1]. Кроме того, использование комбинированной терапии — один из возможных путей предотвращения возникновения резистентных к препарату штаммов вируса. К настоящему моменту комбинации противогриппозных препаратов изучены как в экспериментальных опытах, в культуре клеток и на моделях животных, так и в клинических исследованиях [1]. Интересные данные получены при комбинации осельтамивира, римантадина и рибавирина в культуре клеток, эта комбинация оказалась эффективной в отношении штаммов вируса гриппа, резистентных к римантадину и осельтамивиру [2]. Эта комбинация позже была успешно применена при лечении тяжёлого случая гриппа, вызванного пандемическим штаммом вируса гриппа H1 [2]. Синергидный эффект комбинации умифеновира с римантадином и осельтамивиром был показан в культуре клеток, эффективность последней комбинации подтвердилась в клинических исследованиях [3, 4]. Показано, что лучшие результаты даёт сочетание препаратов, имеющих различный механизм действия [1]. Мишень для применяемых в химиотерапии вируса гриппа препаратов занамивира и осельтамивира — поверхностный гликопротеин нейраминидаза, функцию которого эти препараты ингибируют. Риамиловир (метилтионитрооксодигидротриазоло-триазинид натрия, «Триазавирин®») — оригинальный российский препарат семейства азолоазинов, аналог пуринового нуклеозида (гуанозина), относится к ингибиторам синтеза вирусных РНК и репликации геномных фрагментов [5]. Препарат создан совместными усилиями Уральского политехнического института и Института органического синтеза им. И. Я. Постовского УрО РАН и Научно-исследовательского института гриппа. Риамиловир обладает широким спектром противовирусной активности, эффективен для ряда острых респираторных вирусных инфекций [6], в том числе гриппа А и В как в культуре клеток [7], так и на модели вторичной пневмонии мышей после гриппозной инфекции [8], и включён в клинические рекомендации для лечения гриппа у взрослых [9, 10]. Установлено, что использование риамиловира в этиотропной терапии гриппа способствует сокращению продолжительности основных симптомов заболевания (интоксикации, лихорадки, катаральных симптомов), снижает частоту развития осложнений и объём симптоматической терапии [5].

Предварительные данные позволяют предположить, что механизм противовирусного действия риамиловира отличается от механизма действия существующих противогриппозных препаратов. Существующие данные указывают на его плеiotропность, однако основным механизмом риамиловира, вероятно, является ингибирование синтеза вирусных РНК и репликации геномных фрагментов [11].

Материал и методы

1. Препараты, их субстанции, приготовление растворов для экспериментов. Использовали субстанции риамиловира (метилтионитрооксодигидротриазоло-триазинид натрия, «Триазавирин®»), предоставленную производителем, ООО «Завод Медсинтез» и лекарственную форму осельтамивира в виде капсул «Тамифлю», производитель Хоффманн-Ля Рош Лтд. Для приготовления растворов для введения препараты растворяли в дистиллированной воде перед проведением эксперимента. Дозы осельтамивира готовились и указаны из расчёта содержания чистой субстанции в лекарственной форме. Вещества взвешивали с точностью до 0,1 мг на аналитических весах. Дозы препаратов рассчитывали в относительных весовых единицах — мг/кг массы тела животных в сутки. Животным давали растворы препаратов перорально в объёме 200 мкл, при комбинированном использовании смесь обоих вводилась также в объёме 200 мкл.

Исследуемые дозы: риамиловир 12,5 и 25 мг/кг/день, осельтамивир 5 мг/кг/день, комбинации риамиловир 12,5 мг/кг/день и осельтамивир 5 мг/кг/день, риамиловир 25 мг/кг/день и осельтамивир 5 мг/кг/день.

2. Вирус. Для моделирования гриппозной пневмонии мышей был использован штамм вируса гриппа А/Калифорния/04/2009 (пндм H1N1 2009), полученный из ВОЗ и адаптированный к мышам. Для подготовки инфицирующего материала мышей заражали интраназально аллантоисным вирусом, после проявления признаков болезни в стерильных условиях получали гомогенат лёгочной ткани. Этот гомогенат использовали для заражения 10-дневных куриных эмбрионов, из которых получали аллантоисный вирус и после определения его инфекционной активности на мышах вирус использовали для инфицирования животных. В обоих опытах использовали аликвоты одного пула вируса, который замораживали и хранили при температуре -70°C.

3. Животные. Нелинейных мышей, самок массой тела 12—14 г, получали из питомника «Андреевка» (Московская обл.) и содержали на стандартном рационе в виварии. Содержание животных соответствовало правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев). Кормили животных брикетированными кормами в соответствии с утверждёнными нормами, у животных был свободный доступ к воде. Маркировка животных по группам производилась с помощью окраски красителями

поверхности тела. Все эксперименты проводились в соответствии с правилами гуманного обращения с животными и были утверждены Этическим комитетом НИИВС им. Мечникова.

4. Определение эффективности препаратов на модели гриппозной пневмонии мышей. При изучении эффективности риамовируса была использована следующая схема лечения: за 4 ч до и 4 ч после инфицирования, далее в течение 5 дней 2 раза в день. Для лечения осельтамивиром использовали следующую схему: за 1 ч до инфицирования, далее через 8 ч, затем два раза в день в течение 5 дней, комбинацию использовали по такой же схеме. Для перорального введения использовали одноразовый инсулиновый шприц с зондом для кормления животных.

В каждой группе было по 18 животных, на 4-й день после инфицирования для определения титра вируса в лёгких забивали 3 животных, а на морфологическое изучение 5 животных, таким образом, в каждой группе оставалось по 10 животных.

Предварительно взвешенных мышей инфицировали интраназально под наркозом вирусом гриппа А/Калифорния/04/09 в дозе 10 МЛД₅₀ (I опыт) или МЛД₉₀ (II опыт).

Животные контрольной группы были инфицированы вирусом гриппа и не получали лечения, им перорально давали дистиллированную воду в объёме 200 мкл по схеме применения комбинации препаратов. За лечеными и контрольными животными вели ежедневное наблюдение, в первые 5 дней после инфицирования вирусом мышей взвешивали каждый день, далее через 1–2 дня. Химиотерапевтическую активность соединений на модели вирусной пневмонии мышей оценивали по следующим критериям: выживаемость животных, увеличение средней продолжительности жизни и уменьшение снижения массы тела в группах животных, леченных препаратами, по сравнению с контрольной группой.

Средняя продолжительность жизни мышей высчитывалась по формуле:

$$MSD = \sum(f(d-1))/n,$$

где **f** — количество мышей умерших на день **d**, выжившие мыши также включены в **f**, и **d** в этом случае равно 16, **n** — количество мышей в группе. Уменьшение или увеличение массы рассчитывалось отдельно для каждой мыши и выражалось в процентах, при этом за 100% принималась масса животного перед инфицированием. Для всех мышей одной группы определялось среднее значение процента потери или увеличения массы тела.

5. Получение лёгких мышей. На 4-й день после инфицирования вирусом гриппа в каждой группе умерщвляли по 3 мыши и в стерильных условиях извлекали лёгкие. После промывки в ФСБ, лёгкие гомогенизировали и ресуспендировали в 1 мл холодного стерильного раствора ФСБ. Суспензию осветляли от клеточного дебриса центрифугированием при 2000 g в течение 10 мин и супернатант использовали для определения инфекционного титра вируса в культуре клеток MDCK.

6. Гистологическое исследование лёгких. На 4-й день после инфицирования вирусом гриппа в каждой группе умерщвляли по 5 мышей, каждой мыши через трахею, используя шприц, вводили по 1 мл 10% забуференного формалина. После раздувания трахеи хирургическим инструментом открывали грудину, извлекали лёгкие и помещали в стеклянную емкость с формалином.

Лёгкие мышей проводили по спиртовым растворам восходящей концентрации и ксилолам в аппарате Tissue-Tek VIP5Jr. Обезвоженные образцы заливали в гистомикс на аппарате Tissue-Tek TEC. Тотальные ступенчатые срезы лёгких толщиной 4–6 мкм изготавливали на микротоме модели Microm HM340E, депарафинировали и окрашивали гематоксилином и эозином.

Для количественной оценки распространённости воспалительных изменений лёгких, ступенчатые тотальные срезы (3 уровня) были отсканированы и объединены в единое изображение на микроскопе Axioplan 2 Imaging Carl Zeiss. Затем в программе Adobe Photoshop зоны воспалительной инфильтрации

были обведены световым пером и окрашены в красный цвет. Остальные зоны срезов, без признаков воспалительного процесса, обводили и окрашивали в голубой цвет. Измерение площадей проводили в морфометрической программе Image-Pro Premier 3D 9.1 Media Cybernetics Inc. Вычисляли объёмную плотность (P/p) — долю площади инфильтрата от суммарной площади среза.

7. Статистическая обработка данных. Полученные цифровые данные были подвергнуты статистической обработке в программе «Statistica 8.0». Поскольку количество животных в группах было небольшим, распределение не подчинялось закону нормального распределения, была использована непараметрическая статистика. Центральные тенденции были вычислены в виде медианы и нижних (25%), и верхних (75%) квартилей, сравнение групп было проведено с использованием метода множественных сравнений Kruskal–Wallis test.

Сравнение выживаемости в группах мышей проводили при помощи однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) в программе «Statistica 8.0», для графического представления данных использовали метод Каплана–Мейера.

Для сравнения изменений массы тела мышей использовался однофакторный дисперсионный анализ для нелинейных моделей, использована четырёхпараметрическая log-логистическая модель. Анализ выполнен в приложении R-Studio (Version 1.0.136), пакет 'drc' (C. Ritz, 2016).

Результаты и обсуждения

Было проведено изучение комбинированного действия риамовируса с противогриппозным препаратом ингибитором нейраминидазы осельтамивиром в двух сериях независимых экспериментов с использованием различных доз заражения вирусом — низкой (МЛД₉₀) и высокой (10 МЛД₅₀). Для определения дозы вируса, содержащей 10 МЛД₅₀ и МЛД₉₀, группы, состоящие из 4–6 мышей, заражали полученным цельным аллантоисным вирусом и последовательными 10-кратными его разведениями. Из данных о гибели мышей вычислялись нужные дозы вируса.

Изучение комбинированного действия риамовируса с осельтамивиром на модели гриппозной пневмонии мышей индуцированной низкой дозой вируса гриппа. В контрольной группе животных, заражённых вирусом гриппа и не получавшей лечения, начиная с 4-го дня, наблюдалась гибель, к 16-му дню наблюдения выжила 1 мышь из 10 (рис. 1). Средняя продолжительность жизни в этой группе была 9,5 дней (табл. 1). Анализ изменения массы тела показал, что в контрольной группе мышей, наблюдалось максимальное снижение массы тела, достигшее к 7-му дню около 15% (рис. 2).

Лечение одним риамовирусом снижало смертность животных и повышало среднюю продолжительность их жизни в дозах 12,5 и 25 мг/кг/день, однако эти эффекты не были статистически значимы. В этих группах также было отмечено меньшее снижение массы тела по сравнению с группой вирусного контроля (см. рис. 2).

Лечение осельтамивиром в дозе 5 мг/кг/день было сходно по эффекту с лечением риамовирусом в дозах 12,5 и 25 мг/кг/день, защищая 40% ин-

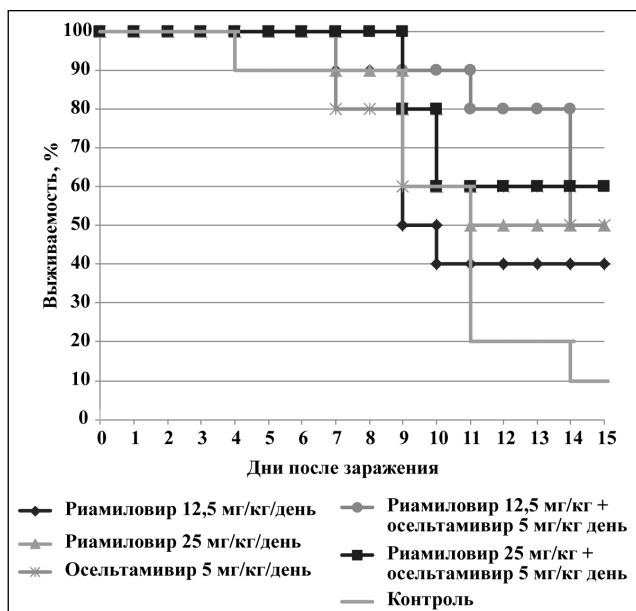


Рис. 1. Выживаемость мышей при лечении препаратами и их комбинациями на модели гриппозной пневмонии мышей, инфицированных низкой дозой вируса (I опыт).

фицированных животных, увеличивало их среднюю продолжительность жизни (см. рис. 1, 2), при этом потери массы тела в данной группе не наблюдалось.

Использование комбинации риамилловира в двух дозах 12,5 и 25 мг/кг/день с осельтамивиром в дозе 5 мг/кг/день было более эффективно, чем лечение каждым из препаратов в отдельности, статистически значимо снижая гибель, предотвращая потерю массы тела и увеличивая среднюю продолжительность жизни инфицированных и леченных животных. При комбинации риамилловира с осельтамивиром повышение дозы риамилловира (с 12,5 до 25 мг/кг/день) не приводило к увеличению эффективности лечения по всем параметрам.

Результаты вирусологического исследования лёгких подтвердили данные клинической эффек-

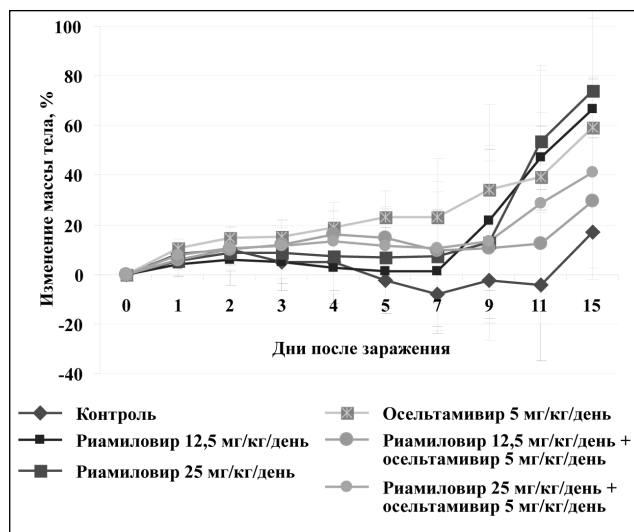


Рис. 2. Изменение массы тела при лечении препаратами и их комбинациями на модели гриппозной пневмонии мышей, инфицированных низкой дозой вируса (I опыт).

тивности. Лечение риамилловиром во всех изученных дозах, а также осельтамивиром в дозе 5 мг/кг/день, примерно одинаково, на 1,0–1,33 lg ТЦИД₅₀ ингибировало титр вируса, однако это ингибирование не было статистически значимым. При комбинированном использовании препаратов, подавление размножения вируса в лёгких было статистически значимо и составляло 3,5–3,67lg ТЦИД₅₀ (см. табл. 1).

Изучение комбинированного действия риамилловира с осельтамивиром на модели гриппозной пневмонии мышей, индуцированной высокой дозой вируса гриппа. Во второй серии опытов была использована высокая доза заражения 10 МЛД₅₀, вызывающая более острое течение инфекции и гибель всех животных в группе вирусного контроля.

В контрольной группе животных, заражённых вирусом гриппа в дозе 10 МЛД₅₀ и не получавшей лечения, в соответствии с дозой заражения, начиная с 5-го дня, наблюдалась гибель,

Таблица 1. Эффективность риамилловира и его комбинации с осельтамивиром на модели гриппозной пневмонии мышей при заражении низкой дозой адаптированного к мышам вируса гриппа А/Калифорния/04/2009 (H1N1)

Доза, мг/кг	Данные на 16-й день наблюдения		СПЖ, дни	Титр вируса в лёгких на 4-й день инфекции
	выживаемость (выжившие/ общее количество мышей)	смертность, %		
Риамилловир				
12,5	4/10 ($p=0,134596$)	60	10,7	5,0±1,32
25	5/10 ($p=0,054371$)	50	10,2	4,83±2,02
Осельтамивир				
5	5/10 ($p=0,054371$)	50	13,4	2,5±2,0
Осельтамивир + риамилловир				
12,5	6/10 ($p=0,017679$)	40	13,4	2,5±2,0
25	6/10 ($p=0,017679$)	40	12,4	2,33±2,25
Вирусный контроль				
—	1/10	90	9,5	6,0±0

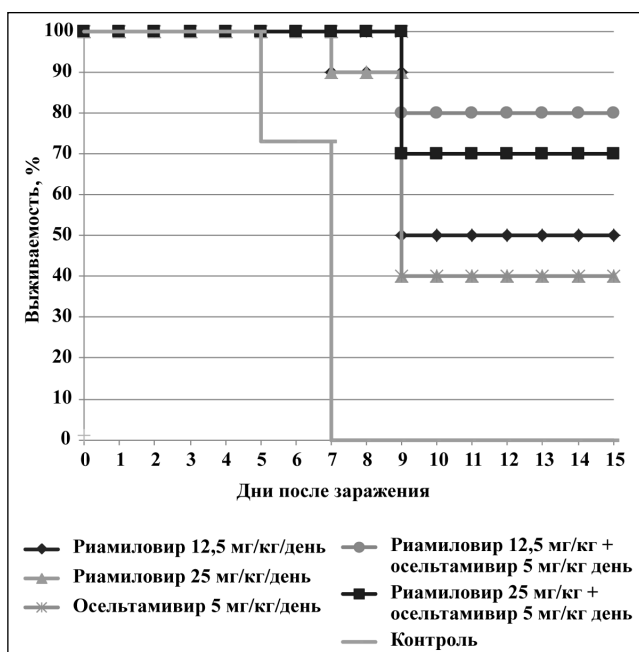


Рис. 3. Выживаемость мышей при лечении препаратами и их комбинацией на модели гриппозной пневмонии мышей, инфицированных низкой дозой вируса (II опыт).

которая за два дня к 7-му дню достигла 100% (рис. 3). Средняя продолжительность жизни в этой группе была 5,5 дней. Ко дню полной гибели вирусного контроля лечение риамиловиром в двух изученных дозах 12,5 и 25 мг/кг/день, осельтамивиром в дозе 5 мг/кг/день, а также их комбинациями практически полностью предотвращало гибель животных. Лечение наиболее высокой из изученных доз риамиловира защищало от смертности треть животных, при этом потеря массы тела животных от вирусной гриппозной пневмонии была сравнима с группой вирусного контроля (табл. 2, рис. 4).

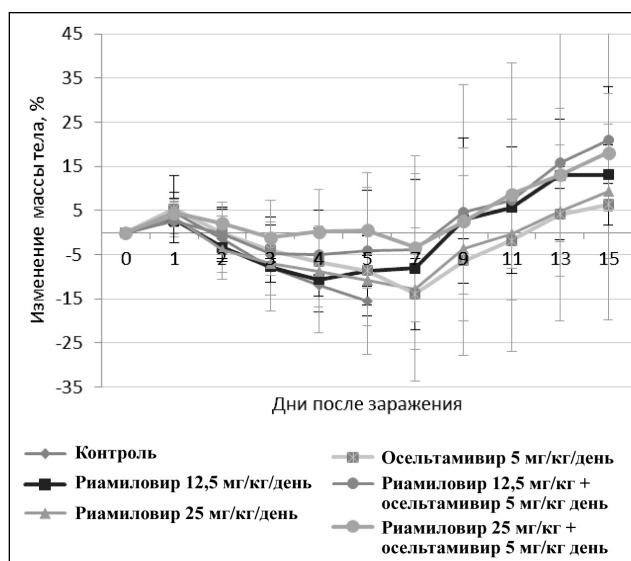


Рис. 4. Изменение массы тела при лечении препаратами и их комбинацией на модели гриппозной пневмонии мышей, инфицированных высокой дозой вируса (II опыт).

При дальнейшем наблюдении за животными было отмечено, что во всех группах леченных животных наблюдалась гибель. К концу срока наблюдения оказалось, что лечение риамиловиром в дозах 12,5 и 25 мг/кг/день было сходно по эффективности с лечением осельтамивиром в дозе 5 мг/кг/день и защищало от смертности 40–50% животных, увеличивая продолжительность их жизни в 1,6–2 раза и снижая потерю массы тела. Лечение комбинацией риамиловира в дозах 12,5 и 25 мг/кг/день с осельтамивиром было более эффективно, чем лечение каждым из препаратов в соответствующих дозах в отдельности. Данное лечение приводило к защите от смертности 70–77% животных, увеличению их продолжительности жизни.

Таблица 2. Эффективность риамиловира и его комбинации с осельтамивиром на модели гриппозной пневмонии мышей при заражении высокой дозой адаптированного к мышам вируса гриппа А/Калифорния/04/2009 (H1N1)

Доза	Данные к полной гибели вирусного контроля		Данные на 16-й день наблюдения			Титр вируса в лёгких на 4-й день инфекции
	Выживаемость (выжившие/общее количество мышей)	Смертность, %	Выживаемость (выжившие/общее количество мышей)	Смертность, СПЖ, дни	%	
Риамиловир						
12,5 мг/кг	9/10 (<i>p</i> =0,000000)	10	5/10 (<i>p</i> =0,005217)	50	50	3,0±3,0
25 мг/кг	10/10	0	4/10 (<i>p</i> =0,018514)	60	40	3,67±3,21
Осельтамивир						
5 мг/кг	9/10 (<i>p</i> =0,000000)	10	4/10	60	9	1,33±0,29
Осельтамивир + риамиловир						
12,5 мг/кг	9/9	0	7/9 (<i>p</i> =0,000014)	23	13,4	0
25 мг/кг	9/10 (<i>p</i> =0,000000)	10	7/10 (<i>p</i> =0,000119)	30	12,9	0
Вирусный контроль						
—	0/11	100	0/11	100	5,5	6,0

ни более, чем в 2 раза и к практически полному предотвращению потери массы тела (рис. 3 и 4).

Лечение всеми препаратами по отдельности ингибировало размножение вируса в лёгких животных (см. табл. 1). Наиболее эффективное по клиническим признакам лечение комбинациями препаратов полностью подавляло размножение вируса в лёгких, вирус в лёгких таких животных не определялся.

Морфологическое изучение лёгких мышей. Во всех группах в лёгких у мышей, зараженных вирусом гриппа, выявлялись обширные очаги бронхопневмонии, просветы альвеол были заполнены лимфоцитами, макрофагами, эритроцитами и нейтрофилами. В бронхах разных порядков определялся экссудат из нейтрофилов, лимфоцитов, макрофагов, эпителий был очагово десквамирован (рис. 5). В лёгких мышей, леченных препаратом риамилловир в дозе 12,5 мг/кг/день, отличий от контрольной группы не обнаружено. В группах мышей, леченных препаратом риамилловир в дозе 25 мг/кг/день, осельтамивир в дозе 5 мг/кг/день, комбинацией риамилловира в дозе 12,5 мг/кг/день и осельтамивира в дозе 5 мг/кг/день, очаги пневмонии были чётко очерченными и располагались преимущественно перибронхиально, в них был менее выражен геморрагический компонент.

Морфометрический анализ лёгких мышей. В дополнении к качественному гистологическому изучению лёгких был проведён количественный морфометрический анализ. Данные по количественной оценке распространённости воспалительного процесса в лёгких мышей после заражения вирусами гриппа и лечения антивирусными препаратами представлены в гистограмме (рис. 6). В табл. 3 представлена доверительная вероятность результатов сравнения цифровых данных.

По данным морфометрической оценки, риамилловир в дозах 12,5 и 25 мг/кг не оказал терапевтического эффекта. Введение препарата осельтамивир в дозе 5 мг/кг оказывало терапевтический эффект — Р/р очагов воспалительной инфильтрации был снижен на 53% по сравнению с нелечеными мышами.

Сочетание препаратов осельтамивира в дозе 5 мг/кг и риамилловира в дозе 12,5 мг/кг оказывали заметный терапевтический эффект, Р/р воспалительного инфильтрата снижалась на 60% в этой группе, по сравнению с лёгкими нелеченых мышей, а также по сравнению с группой животных, леченных риамилловиром в дозе 12,5 мг/кг отдельно. Таким образом, гистологическое изучение лёгких полностью подтвердило данные, полученные по клиническим признакам и при вирусологическом изучении лёгких.

В нашей работе на модели гриппозной пневмонии мышей показано, что комбинация риами-

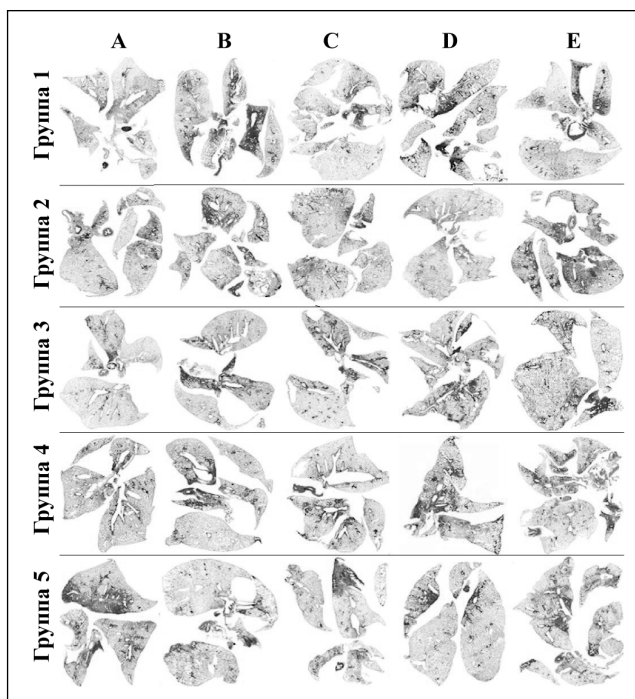


Рис. 5. Общая картина распределения очагов пневмонии на тотальных срезах лёгких мышей экспериментальных групп. Окр. гематоксилин и эозин, ув. 4. Группа 1 — контроль; группа 2 — риамилловир 12,5 мг/кг; группа 3 — риамилловир 25 мг/кг; группа 4 — осельтамивир 5 мг/кг; группа 5 — осельтамивир 5 мг/кг + риамилловир 12,5 мг/кг.

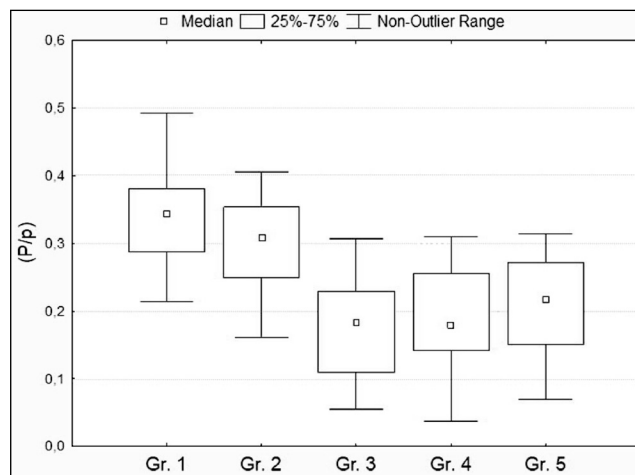


Рис. 6. Гистограмма размаха. Зависимость объёмной доли воспалительного инфильтрата от примененного препарата и его дозы.

Группа 1 — контроль; группа 2 — риамилловир 12,5 мг/кг; группа 3 — риамилловир 25 мг/кг; группа 4 — осельтамивир 5 мг/кг; группа 5 — осельтамивир 5 мг/кг + риамилловир 12,5 мг/кг.

ловира в дозах 12,5 или 25 мг/кг/день с осельтамивиром в дозе 5 мг/кг/день позволяет повысить эффективность лечения по сравнению с эффективностью лечения каждым препаратом в соответствующей дозе и по соответствующей схеме в от-

Таблица 3. Доверительная вероятность различий между группами мышей, зараженных вирусами гриппа и лечения противовирусными препаратами, Kruskal–Wallistest ($n=107$) $H=42,88$; $p=,0000$

Группа	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Группа 5
1		1,0000	0,0000	0,0001	0,0027
2			0,0051	0,0190	0,1825
3				1,0000	1,0000
4					1,0000

Примечание. Группа 1 – контроль; группа 2 – риамовир 12,5 мг/кг; группа 3 – риамовир 25 мг/кг; группа 4 – осельтамивир 5 мг/кг; группа 5 – осельтамивир 5 мг/кг + риамовир 12,5 мг/кг.

дельности. Данное лечение на модели гриппозной пневмонии мышей статистически значимо снижало гибель животных, предотвращало потерю ими массы тела и увеличивало продолжительность жизни по сравнению с контрольной группой нелеченых животных. Указанные комбинации препаратов при заражении низкой дозой вируса снижали размножение вируса в лёгких животных, а при высокой дозе заражения подавляли размножение вируса полностью. Кроме того, лечение комбинацией риамовира в дозе 12,5 мг/кг/день с осельтамивиром оказывало влияние на состояние лёгких животных, уменьшая площадь очагов пневмонии. Данное исследование подтвердило, что комбинированное действие препаратов более эффективно, чем действие каждого препарата отдельно. Проведённые ранее исследования выявили, что риамовир в модели гриппозной пневмонии мышей имеет узкое терапевтическое окно, то есть диапазон концентраций, при котором он является эффективным. В наших исследованиях комбинация риамовира с осельтамивиром позволила снизить концентрацию риамовира без снижения эффективности.

В настоящее время штаммы, резистентные к риамовиру, не выявлены ни в экспериментах, ни в клинической практике. Резистентность к осельтамивиру при его клиническом использовании выявляется у 1,5–2,5% взрослых пациентов и достигает более высокого процента у детей (18%), а также у пациентов, страдающих нарушениями иммунной системы [12]. Можно полагать, что применение изученной комбинации позволит также снизить и риск возникновения резистентности к осельтамивиру. Полученные данные являются основанием для оптимизации схем и доз лечения противогриппозными препаратами риамовиром и осельтамивиром, однако для внедрения их комбинированного использования в практику нужны дальнейшие клинические испытания у людей.

Выражение признательности. Авторы выражают признательность за помощь в проведении работы с животными лаборантам ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова Г. А. Богачевой, С. К. Кирьяновой и Е. А. Потаповой.

ЛИТЕРАТУРА

- Govorkova E. A., Webster R. G. Combination chemotherapy for influenza. *Viruses*. 2010 Aug; 2 (8): 1510–1529.
- Nguyen J. T., Hoopes J. D., Le M. H. et al. Triple combination of amantadine, ribavirin, and oseltamivir is highly active and synergistic against drug resistant influenza virus strains in vitro. *PLoS One* 2010; 5 (2): e9332.
- Leneva I. A. Medical agent for treating viral infections. Patent: International Pub. No. WO/2007/075102: International Application No.: PCT/RU2005/000677, 2007.
- Ленёва И.А., Федякина И.Т., Гуськова Т.А., Глушков Р.Г. Чувствительность различных штаммов вируса гриппа к арбидолу. Изучение эффекта арбидола на репродукцию вируса гриппа А в комбинации с различными противовирусными препаратами. Терапевтический архив. — 2005. — № 8. — С. 84–88. / *Lenyova I. A., Fedyakina I. T., Gus'kova T. A., Glushkov R. G. CHuvstvitel'nost' razlichnykh shtam-mov virusa grippa k arbidolu. Izuchenie ehffekta arbidola na reprodukciyu virusa grippa A v kombinacii s razlichnymi protivovirusnymi preparatami. Terapevticheskij arkhiv* 2005; 8: 84–88. [in Russian]
- Чупахин О.Н., Киселев О.И., редакторы. Триазавирин — противовирусный препарат нового поколения. Монография, 2016. / *Chupakhin O. N., Kiselev O. I., redaktory. Triazavirin — protivovirusnyj preparat novogo pokoleniya. Monografiya*, 2016. [in Russian]
- Тихонова Е. П., Кузьмина Т. Ю., Андропова Н. В., Тошевская О. А., Елистратова Т. А., Кузьмин А. Е. Изучение эффективности противовирусных препаратов (умифеновира, триазавирина) в отношении острых респираторных вирусных инфекций. Казанский медицинский журнал. — 2018. — Т. 99. — № 2. / *Tikhonova E. P., Kuz'mina T. YU., Andronova N. V., Tyushevskaya O. A., Elistratova T. A., Kuz'min A. E. Izuchenie ehffektivnosti protivovirusnykh preparatov (umifenovi-ra, triazavirina) v otnoshenii ostrykh respiratornykh virusnykh infekcij. Kazanskij medicinskij zhurnal* 2018; 99: 2. [in Russian]
- Логинова С. Я., Борисевич С. В., Максимов В. А. и др. Изучение противовирусной активности триазавирина в отношении возбудителя гриппа А (H5N1). Антибиотики и химиотер. — 2007. — Т. 52. — № 11–12. — С. 18–20. / *Loginova S. YA., Borisevich S. V., Maksimov V. A. i dr. Izuchenie protivovirusnoj aktivnosti triazavirina v otnoshenii vozbuditelya grippa A (H5N1). Antibiotiki i khimioter* 2007; 52: 11–12: 18–20. [in Russian]
- Leneva I. A., Falynskova I. N., Makhmudova N. R., Glubokova E. A., Kartasheva N. P., Leonova E. I., Mikhailova N. A., Shestakova I. V. Effect of triazavirine on the outcome of a lethal influenza infection and secondary bacterial pneumonia following influenza in mice. *Microbiol Independ Res (MIR)* 2017; 4 (1): 52–57.
- Федеральные клинические рекомендации под редакцией Международной ассоциации специалистов в области инфекций (МАСОИ) «Грипп у взрослых», 2017. — С. 32. / *ederal'nye klinicheskie rekomendacii pod redakciej Mezhdunarodnoj associacii specialistov v oblasti infekcij (MASOI) «Gripp u vzroslykh»*, 2017; 32. [in Russian]
- Клинические рекомендации ассоциаций «Национальное научное общество инфекционистов» и «Общероссийская общественная организация Российское научное медицинское общество терапевтов», 2017. — С. 29. / *Klinicheskie rekomendacii associacij «Nacional'noe nauchnoe obshchestvo infekcionistov» i «Obshcherossiyskaya obshchestvennaya organizaciya Rossijskoe nauchnoe medicinskoe obshchestvo terapevtov»*, 2017; 29. [in Russian]
- Триазавирин (Triazavirin) инструкция по применению, регистрационный номер ЛП-002604. / *Triazavirin (Triazavirin) instrukciya po primeneniyu, registracionnyj nomer LP-002604*. [in Russian]
- Hurt A. C. The epidemiology and spread of drug resistant human influenza viruses. *Curr Opin Virol* 2014; 8: 22–29.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Фалынскова Ирина Николаевна — н. с. лаборатории экспериментальной вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва

Ленёва Ирина Анатольевна — д. б. н., заведующая лабораторией экспериментальной вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва

Макарова Ольга Васильевна — д. м. н., профессор, заведующая лабораторией иммуноморфологии воспаления ФГБНУ НИИМЧ, Москва

Махмудова Наилья Рамилевна — в. н. с. лаборатории экспериментальной вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва

Глубокова Екатерина Андреевна — м. н. с. лаборатории экспериментальной вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва

Карташова Надежда Павловна — м. н. с. лаборатории экспериментальной вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва

Мхитаров Владимир Аршакович — к. б. н., руководитель группы информатики и морфометрии ФГБНУ НИИМЧ, Москва

Джалилова Джулия Шавкатовна — м. н. с. лаборатории иммуноморфологии воспаления ФГБНУ НИИМЧ, Москва

Генотипы и носительство генов β -лактамаз у карбапенеморезистентных штаммов *Acinetobacter baumannii*, выделенных в г. Москве

И. В. ЧЕБОТАРЬ¹, О. А. КРЫЖАНОВСКАЯ¹, Н. М. АЛЯБЬЕВА¹, Т. А. САВИНОВА¹, Ю. А. БОЧАРОВА¹,
А. В. ЛАЗАРЕВА¹, С. В. ПОЛИКАРПОВА², О. В. КАРАСЕВА³, Н. А. МАЯНСКИЙ¹

¹ Национальный научно-практический центр здоровья детей Минздрава России, Москва

² Городская клиническая больница №15 им. О.М.Филатова, Москва

³ НИИ неотложной детской хирургии и травматологии, Москва

Genotypes and β -Lactamase Gene Carriage in Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolated in Moscow

I. V. CHEBOTAR¹, O. A. KRYZHANOVSKAYA¹, N. M. ALYABIEVA¹, T. A. SAVINOVA¹, YU. A. BOCHAROVA¹,
A. V. LAZAREVA¹, S. V. POLIKARPOVA², O. V. KARASEVA³, N. F. MAYANSKIY¹

¹ National Medical Research Center of Children Health of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow

² Municipal Clinical Hospital No.15 n.a. O. M. Filatov, Moscow

³ Scientific Research Institute of Emergency Children's Surgery and Traumatology, Moscow

Цель. Определить механизмы резистентности к карбапенемам у штаммов *Acinetobacter baumannii* и дать их клональную характеристику путём мультилокусного сиквенс-типирования. **Материал и методы.** Охарактеризованы карбапенеморезистентные (карба-Р) изоляты *A.baumannii*, выделенные у пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии и хирургического профиля трёх стационаров г. Москвы в 2012—2015 гг. Чувствительность к карбапенемам определяли методом Е-тестов. Определение сиквенс-типов (ST) проводили путём мультилокусного сиквенс-типирования (МЛСТ) с использованием стандартных протоколов по схемам Oxford и Pasteur. Детекцию генов β -лактамаз проводили при помощи ПЦР. **Результаты.** Всего исследовали 88 карба-Р *A.baumannii*. МЛСТ по схеме Oxford (Oxf) выявило 15 сиквенс-типов, которые принадлежали к трём клональным комплексам (CC): CC92^{Oxf} (69%), CC944^{Oxf} (30%) и CC109 (1%). CC944^{Oxf} включал ST944^{Oxf} ($n=16$) и два впервые описанных однолокусных варианта этого сиквенс-типа — ST1103^{Oxf} ($n=3$) и ST1104^{Oxf} ($n=7$); все три сиквенс-типа были идентичны ST78 по МЛСТ-схеме Pasteur (Pas). Все изоляты *A.baumannii*, относившиеся к CC944^{Oxf}/ST78^{Pas} ($n=26$), были носителями гена OXA-40-подобной карбапенемазы bla_{OXA-72}, и все, за исключением одного, обладали геном β -лактамазы расширенного спектра из группы CTX-M bla_{CTX-M-115}. ST944^{Oxf} был единственным сиквенс-типом, присутствовавшим во всех трёх стационарах. **Заключение.** Наши данные показывают доминирование двух клональных линий среди карба-Р *A.baumannii* в г. Москве. Одна из них, включающая носителей bla_{OXA-72} и bla_{CTX-M-115} из CC944^{Oxf}/ST78^{Pas}, может быть клоном, эндемичным для России.

Ключевые слова: *Acinetobacter baumannii*, устойчивость к антибиотикам, карбапенемазы, МЛСТ, клональный комплекс.

The aim of the study was to determine the mechanisms of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* strains and give their clonal characteristics by multilocus sequence typing. **Materials and methods.** The authors characterized carbapenem-resistant *A.baumannii* isolates (CRAB) collected from patients in surgical departments and intensive care units at three hospitals in Moscow in 2012—2015. Sensitivity to carbapenems was determined by the Etest method. Identification of sequence types (ST) was carried out by multilocus sequence typing (MLST) using standard Oxford and Pasteur protocols. Detection of β -lactamase genes was performed by PCR. **Results.** Among 88 examined CRAB isolates, the Oxford (Oxf) MLST protocol identified 15 STs of 3 clonal complexes (CCs), including CC92^{Oxf} (69%), CC109^{Oxf} (1%), CC944^{Oxf} (30%). CC944^{Oxf} was composed of ST944^{Oxf} ($n=16$) and two newly described single locus variants ST1103^{Oxf} ($n=3$) and ST1104^{Oxf} ($n=7$); all three STs were identical to the Pasteur (Pas) MLST protocol ST78. All CC944^{Oxf}/ST78^{Pas} isolates were bla_{OXA-72}-positive and all but one of them had a bla_{CTX-M-115} gene. ST944^{Oxf} was the only ST found in each of the three study hospitals. **Conclusion.** Our data demonstrate the predominance of two clonal lineages among Carba-NS *A.baumannii*. One of them, the uncommon bla_{OXA-72}/bla_{CTX-M-115}-positive clone of CC944^{Oxf}/ST78^{Pas}, seems to be endemic in Russia.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, antibiotic resistance, carbapenemase, MLST, clonal complex.

© Коллектив авторов, 2017

Адрес для корреспонденции: 119991 Москва, Ломоносовский проспект, 2 стр. 1.

Введение

Acinetobacter baumannii стали серьёзной проблемой для здравоохранения во многих странах. Этот оппортунистический патоген может вызывать бактериемию, поражать мочевой тракт и дыхательные пути, становясь причиной серьёзных осложнений и повышая уровень заболеваемости и смертности [1–7]. Кроме того, *A. baumannii* может вызывать вспышки госпитальных инфекций с тяжёлыми последствиями [8, 9]. Способность возбудителя приобретать устойчивость к различным группам антимикробных препаратов подчёркивает его клиническое значение [10, 11]. Распространение карбапенеморезистентных (карба-Р) *A. baumannii* с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ, т. е. устойчивость к 3 и более классам антибиотиков) значительно ограничивает выбор эффективной антимикробной терапии, особенно среди пациентов, находящихся в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) [4, 8].

Ценным методом изучения молекулярной эпидемиологии *A. baumannii* служит мультилокусное сиквентс-типирование (МЛСТ). Принадлежность к сиквентс-типу (ST) определяется путём секвенирования фрагментов семи генов «домашнего хозяйства», а сиквентс-типы, имеющие как минимум пять общих аллелей из семи, формируют клональный комплекс (СС). Большинство карба-Р изолятов *A. baumannii* относятся к нескольким международным клонам (ICs), которые распространены по всему миру [12, 13]. Две существующие схемы МЛСТ *A. baumannii*, Oxford (Oxf) и Pasteur (^{Pas}), дают сходные результаты типирования [14], хотя есть сообщения о более высокой разрешающей способности схемы Oxford [15]. Кроме того, для определения принадлежности *A. baumannii* к ICs был разработан удобный метод на основе ПЦР [12, 13]. Данные литературы указывают на взаимосвязь между генотипом и клинически значимыми свойствами возбудителя, включая колонизационный и инвазивный потенциал [15, 16]. Таким образом, мониторинг циркулирующих генотипов *A. baumannii* играет важную роль в изучении локальной эпидемиологии, а также позволяет сопоставлять местные данные с глобальными трендами.

По данным многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН, в России частота встречаемости *A. baumannii* среди возбудителей нозокомиальных инфекций возросла с 10,2% в 2002–2004 до 13,9% в 2011–2012 [17]. Однако особую тревогу вызывает более чем двукратный рост доли карба-Р изолятов за этот период времени, которая достигла 67,5%. Молекулярная эпидемиология *A. baumannii* в России остаётся недостаточно изученной; небольшое число имеющихся работ описывает единичные изоляты [17–19].

В настоящем исследовании мы охарактеризовали карба-Р изоляты *A. baumannii*, выделенные у пациентов из трёх стационаров города Москвы в 2012–2015 гг., проведя МЛСТ и описав спектр антибиотикорезистентности и носительство генов карбапенемаз у этих бактерий.

Материал и методы

Бактериальные изоляты. В исследование включили 88 последовательных, недублирующихся карба-Р изолятов *A. baumannii*, выделенных у пациентов хирургического профиля и ОРИТ трёх стационаров города Москвы: ФГАУ «Национальный научно-практический центр здоровья детей» (С-1), НИИ неотложной детской хирургии и травматологии (С-2), Городская клиническая больница №15 им. О.М. Филатова (С-3). Изоляты у пациентов из С-1 и С-2 ($n=27$ и $n=41$, соответственно) собирали с мая 2012 г. по апрель 2015 г. Изоляты у пациентов из С-3 ($n=20$) получили в ноябре 2014 г. для настоящего исследования. Все лабораторные исследования собранных образцов проводили в ФГАУ «Национальный научно-практический центр здоровья детей». Видовую идентификацию *A. baumannii* выполняли с использованием метода белкового профилирования путём матрично-активированной лазерной десорбционно-ионизационной время пролетной (MALDI-TOF) масс-спектрометрии (BrukerDaltonics, Бремен, Германия; MALDI Biotyper).

МЛСТ. Определение сиквентс-типов проводили с использованием стандартных протоколов по схемам Oxford и Pasteur [14]. Для формирования клональных комплексов использовали метод кластеризации eBURST, в анализ включали все сиквентс-типы, доступные в он-лайн базе данных [14]. К одному клональному комплексу относили сиквентс-типы с пятью и более идентичными аллелями из семи.

Определение чувствительности к антибиотикам и носительства генов β -лактамаз. Чувствительность к имипенему, меропенему, гентамицину, нетилмицину, ципрофлоксацину и колистину определяли методом Е-тестов (bioMérieux, Франция). Чувствительность к колистину дополнительно тестировали автоматизированным методом на анализаторе Vitek-2 Compact (bioMérieux, Франция). Результаты интерпретировали, руководствуясь оценочными критериями EUCAST-2015. Карба-Р считали изоляты, имевшие минимальные подавляющие концентрации (МПК) меропенема и/или имипенема >8 мкг/мл. Детекцию *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-40}, *bla*_{OXA-58}-подобных групповых генов карбапенемаз проводили при помощи ПЦР с использованием наборов с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенсMDRAb-OXA-FL» производства ЦНИИЭ Роспотребнадзора, согласно инструкции производителя. Скрининг *bla*_{CTX-M}-подобных генов выполняли у всех изолятов CC944^{Oxf} и как минимум у одного изолята каждого не-CC944^{Oxf}-сиквентс-типа, выделенного в каждом из стационаров, с помощью праймеров, амплифицирующих фрагмент всех известных групп генов *bla*_{CTX-M}, согласно ранее описанному протоколу [20]. У ПЦР-положительных изолятов определяли тип *bla*_{OXA} и/или *bla*_{CTX-M} путём секвенирования по Сэнгеру амплифицированных фрагментов генов с использованием праймеров, описанных Woodford [21] и Edelstein [20], соответственно.

Статистические методы. Статистический анализ проводили с применением пакета IBMSPSS Statistics for Windows, версия 20.0 (IBM Corp.). Для анализа таблиц сопряженности при сравнении долей использовали критерий χ^2 . Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Распределение клональных комплексов и сиквентс-типов согласно схемам Oxford и Pasteur. Все-

Распределение 88 карбапенеморезистентных изолятов *A. baumannii* в соответствии с Oxford- и Pasteur-МЛСТ генотипом, распространённостью в стационарах, носительством *bla*_{ОХА}-подобных генов и гена *bla*_{CTX-M-115}

МЛСТ Oxford			n (% от всех изолятов) (n=88)	Стационар (число изолятов)			тип <i>bla</i> _{ОХА} ^a	<i>bla</i> _{CTX-M-115} ^b	МЛСТ Pasteur ^c	
СС	ST ^e	Комментарий		C-1 (n=27)	C-2 (n=41)	C-3 (n=20)			СС	ST
CC92			61 (69%)	16	30	15			CC2	
	348	DLV ST92	30	3	27	0	72	отр.		2
	450	DLV ST92	9	9	0	0	72д	отр.		2
	493 <i>ΔrpoD</i>	DLV ST92	8	0	0	8	23	отр.		570
	493	DLV ST92	3	0	1	2	72	отр.		45; 570*
	1128	SLV ST92	3	0	0	3	72	отр.		2
	208	SLV ST92	2	2	0	0	72	отр.		2
	281	DLV ST92	2	1	1	0	72	отр.		2
	436	SLV ST92	1	0	0	1	23	отр.		2
	558	DLV ST92	1	1	0	0	72	пол.		45
	1097	DLV ST92	1	0	1	0	23	отр.		570
	1102	DLV ST92	1	0	0	1	72	отр.		2
CC944			26 (30%)	10	11	5			Синг.	
	944		16	3	10	3	72	пол.		78
	1104	SLV of ST944	7	7	0	0	72	пол.		78
	1103	SLV of ST944	3	0	1	2	72 ^з	^з		78
CC109									CC1	
	441	SLV of ST109	1 (1%)	1	0	0	72	отр.		826

Примечание. СС — клональный комплекс; ST — сиквенс-тип; DLV — двухлокусный вариант; SLV — однолокусный вариант; отр. — отрицательный; пол. — положительный; Синг. — синглетон. ^a — все изоляты конкретного сиквенс-типа имели указанный тип *bla*_{ОХА}, если не обозначено иное; ^b — наличие гена *bla*_{CTX-M-115} определяли у всех изолятов, относившихся к CC944^{Оxf}, и как минимум у одного изолята каждого сиквенс-типа не-CC944^{Оxf}, выделенного в каждом из стационаров; ^c — МЛСТ по схеме Pasteur было выполнено как минимум у одного изолята каждого Oxford-сиквенс-типа из каждого стационара; ^d — сиквенс-типы расположены в порядке убывания частоты встречаемости. Жирным шрифтом выделены номера впервые описанных сиквенс-типов; ^e — один изолят имел также *bla*_{ОХА-23}; ^f — вариант ST493 с делецией 18 п.о. 229–246 в аллели *ΔrpoD*; * — ST45, два изолята (C-3); ST570, один изолят (C-2); ^з — из трёх изолятов один был носителем *bla*_{ОХА-72} и *bla*_{CTX-M-115} (C-2), один — *bla*_{ОХА-72}, *bla*_{ОХА-23} и *bla*_{CTX-M-115} (C-3), один — только *bla*_{ОХА-72} (C-3).

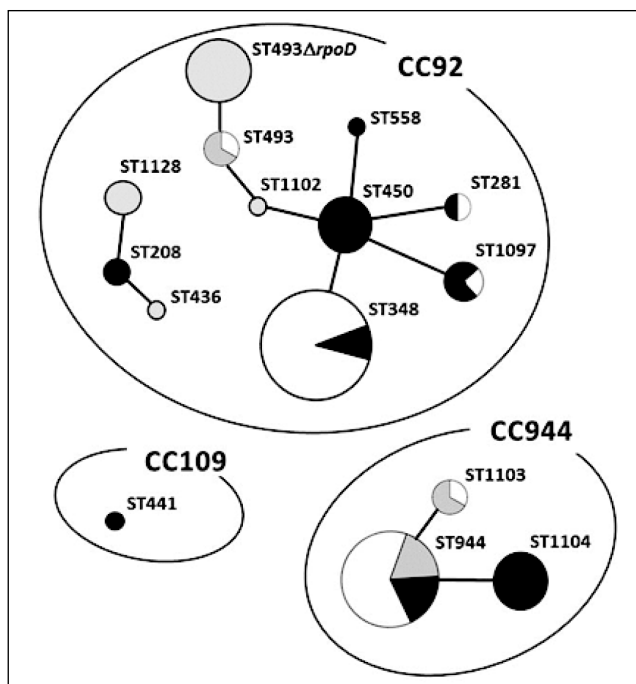
го было исследовано 88 карба-Р изолятов *A. baumannii*, выделенных из крови (14%), трахеального аспирата (48%), отделяемого раны (9%) и скрининговых мазков из зева/ануса (29%). Исходно для всех изолятов мы провели МЛСТ по схеме Oxford, выявив 15 сиквенс-типов, которые принадлежали к трём клональным комплексам: CC92^{Оxf} (n=61), CC109^{Оxf} (n=1) и CC944^{Оxf} (n=26) (табл. 1). CC92^{Оxf} (69%) был представлен тремя однолокусными вариантами (single locus variant, SLV) и восемью двухлокусными вариантами (double locus variant, DLV) ST92^{Оxf}. Доминирующим генотипом был ST348^{Оxf} (n=30), который составил 34% всей коллекции. CC944^{Оxf} состоял из 26 изолятов (30% всей коллекции), относившихся к трём сиквенс-типам, включая ST944^{Оxf} (n=16) и два его SLV: ST1103^{Оxf} (n=3) и ST1104^{Оxf} (n=7). Один изолят ST441^{Оxf} принадлежал к CC109^{Оxf}. Взаимосвязи между сиквенс-типом и типом образца — источником изолята выявлено не было (данные не представлены).

Шесть из 15 Oxford-сиквенс-типов ранее не были представлены в базе данных МЛСТ *A. baumannii* [14]. Новые комбинации аллелей встречались у пяти из шести впервые описанных сиквенс-типов; ST1128^{Оxf} содержал новую *gpi*-аллель. Восемь из 11 изолятов ST493^{Оxf} несли деле-

цию размером 18 п.о. в аллели *rpoD* (позиции 229–246). Этот вариант ST493, который мы обозначили как ST493 *ΔrpoD*^{Оxf}, встречался только в одном изучаемом стационаре — C-3 (см. ниже). Впервые описанные ST1103^{Оxf} и ST1104^{Оxf} составили 38% (10/26) изолятов из числа представителей CC944^{Оxf}.

Для выявления взаимосвязи между изолятами CC944^{Оxf} и известными международными клонами мы провели дополнительное генотипирование *A. baumannii* по схеме Pasteur. Все три сиквенс-типа CC944^{Оxf} соответствовали ST78^{Pas} (таблица), который был ранее описан в литературе [1, 5, 19].

Мы провели дальнейшее сравнение схем МЛСТ Oxford и Pasteur, выполнив Pasteur-МЛСТ как минимум одного изолята каждого Oxford-сиквенс-типа из каждого стационара (см. таблицу). Обе схемы МЛСТ распределили исследованные изоляты между тремя клональными группами [12, 13]: CC92^{Оxf}/CC2^{Pas} (относится к IC2), CC109^{Оxf}/CC1^{Pas} (относится к IC1) и CC944^{Оxf}/ST78^{Pas}. В то же время, схема Oxford позволила идентифицировать 15 сиквенс-типов, тогда как схема Pasteur выделила только пять сиквенс-типов. Единственный Pasteur-сиквенс-тип ST2^{Pas} охватывал семь из одиннадцати Oxford-сиквенс-типов, принадлежавших к CC92^{Оxf};



Популяционная структура 88 карбапенем резистентных изолятов *A. baumannii*, выделенных в трёх стационарах г. Москвы.

Примечание. Цвет кружков обозначает стационар (С): чёрный С-1; белый С-2; серый С-3. Размер кружков пропорционален числу изолятов с соответствующим сиквенс-типом. Линии обозначают однолокусные варианты (SLV).

ST78^{Pas} соответствовал трём сиквенс-типам схемы Oxford. ST493^{Oxf} был эквивалентен двум сиквенс-типам схемы Pasteur: ST45^{Pas} и ST57^{Pas}; последний был идентичен ST493 $\Delta rpoD$ ^{Oxf} (см. таблицу).

В связи с тем, что схема Oxford показала более высокую разрешающую способность при типировании, мы использовали её для анализа разнообразия генотипов карба-Р *A. baumannii* на уровне стационара (см. таблицу). Распространённость клонов в трёх исследуемых стационарах отличалась незначимо ($\chi^2=7,3$; $p=0,294$), однако распределение сиквенс-типов было разным ($\chi^2=123$; $p<0,001$). Десять из 15 выявленных Oxford-сиквенс-типов встречались в единственном стационаре, пять сиквенс-типов были обнаружены в двух стационарах, и только ST944^{Oxf} присутствовал во всех трёх стационарах (рисунок). Например, все изоляты ST450^{Oxf} ($n=9$) и ST1104^{Oxf} ($n=7$) были выявлены в С-1; ST493 $\Delta rpoD$ ^{Oxf} ($n=8$) и ST1128^{Oxf} ($n=3$) встречались только в С-3. Интересно, что все изоляты ST1104^{Oxf} ($n=7$) были выявлены в ОРИТ С-1 в течение пяти недель в ноябре—декабре 2014 г., что указывало на вспышку, а девять изолятов ST450^{Oxf} присутствовали здесь в течение почти всего периода исследования, с сентября 2012 по декабрь 2014 г. В С-2 было получено 27 из 30 изолятов ST348^{Oxf}, что сделало этот ге-

нотип доминирующим в данном стационаре; выделение изолятов этого сиквенс-типа было равномерно распределено во времени исследования.

Определение чувствительности к антибиотикам и идентификация генов β -лактамаз. МПК карбапенемов у всех исследованных изолятов *A. baumannii* составила ≥ 32 мкг/мл. Все штаммы были резистентны к ципрофлоксацину (МПК > 1 мкг/мл); 88 и 82% изолятов проявляли устойчивость к гентамицину и нетилмицину, соответственно. Все карба-Р изоляты были чувствительны к колистину с МПК в пределах 0,125–0,5 мкг/мл.

У всех карба-Р изолятов *A. baumannii* были выявлены гены карбапенемазы из группы OXA (см. таблицу). Большинство изолятов (73/88; 82%) несли OXA-40-подобную карбапенемазу, у 15% (13/88) была обнаружена OXA-23-подобная карбапенемаза, ещё два изолята имели обе карбапенемазы. Ни один изолят не обладал OXA-58-подобной карбапенемазой. Секвенирование амплифицированных фрагментов *bla*_{OXA-23}- и *bla*_{OXA-40}-подобных генов показало, что они были идентичны *bla*_{OXA-23} и *bla*_{OXA-72}, соответственно. Таким образом, наличие OXA-40-подобной карбапенемазы типа OXA-72 было наиболее распространённым механизмом устойчивости к карбапенемам у исследованных нами изолятов *A. baumannii*.

Среди представителей CC92^{Oxf} встречались носители как OXA-72 (75%; 46/61), так и OXA-23 (23%; 14/61), однако изоляты CC944^{Oxf} обладали исключительно OXA-72 (у одного изолята она сочеталась с OXA-23). Примечательно, что каждый сиквенс-тип отличался наличием гена одного типа карбапенемазы, за некоторыми исключениями, описанными ниже (см. таблицу). Например, все изоляты ST348^{Oxf} ($n=30$) и ST944^{Oxf} ($n=16$) несли ген *bla*_{OXA-72}, в то время как все изоляты ST493 $\Delta rpoD$ ^{Oxf} ($n=8$) и ST1128^{Oxf} ($n=3$) обладали геном *bla*_{OXA-23}. Исключение составили изоляты ST493^{Oxf}, которые имели карбапенемазу OXA-72 (2 из 3) или OXA-23 (1 из 3), а также два изолята, которые продуцировали обе карбапенемазы (по одному изоляту ST450^{Oxf} и ST1103^{Oxf}).

При подготовке данной работы к публикации нам встретилось короткое сообщение Y. Pfeifer и соавт. [18], которые описали два карба-Р изолята *A. baumannii* ST78^{Pas}, выделенных у двух пациентов из России, проходивших лечение в двух разных стационарах в Германии. Эти изоляты оказались носителями комбинации *bla*_{OXA-72} и гена β -лактамазы расширенного спектра *bla*_{CTX-M-115}, что послужило стимулом проверить наличие CTX-M-115 у карба-Р *A. baumannii*, исследованных нами. Все изоляты CC944^{Oxf}/ST78^{Pas}, за исключением одного, несли ген *bla*_{CTX-M-115} (см. таблицу). Ни один из оставшихся карба-Р изолятов *A. baumannii* не был носителем *bla*_{CTX-M-115}, за исключением единственного изолята ST558.

В настоящей работе мы представили молекулярно-генетический анализ карба-Р изолятов *A. baumannii*, выделенных у пациентов трёх стационаров г. Москвы. Подавляющее большинство изолятов принадлежало двум клональным линиям, CC92Oxf/CC2Pas и CC944Oxf/ST78Pas, представленным 14 различными Oxford-сиквенс-типами. Только один исследованный изолят ST441Oxf (CC109Oxf) относился к IC1, тогда как клон CC92Oxf/CC2Pas принадлежал к IC2, который имеет глобальное распространение [12, 13]. Клон CC944Oxf/ST78Pas, напротив, является сравнительно редким. Впервые он был описан как синглетон ST78Pas в нескольких стационарах Италии в 2010 г., в связи с чем получил название «итальянский клон» [1, 5, 21, 22]. Изоляты *A. baumannii* ST78Pas изредка выявляли в других средиземноморских странах, а также в США (один изолят в госпитале Майами, 2009 г.) [4], Германии (2012–2013 гг.) [18], Кувейте (2011–2012 гг.) [23], Французской Гвиане (во время вспышки в ОРИТ, 2010 г.) [24].

Согласно базе данных МЛСТ *A. baumannii* [2], ST78Pas является эквивалентом ST944Oxf [2]. В исследованной нами коллекции доля изолятов ST944Oxf и его двух новых SLV (ST1103Oxf и ST1104Oxf), которые также были идентичны ST78Pas, составила 30%. Кроме того, CC944Oxf был представлен во всех трёх стационарах. Таким образом, клон CC944Oxf/ST78Pas стал одним из доминирующих генотипов среди карба-Р изолятов *A. baumannii*, циркулировавших в Москве в период исследования.

Все охарактеризованные нами изоляты CC944Oxf/ST78Pas были носителями гена карбапенемазы *bla*_{OXA-72}, а один изолят дополнительно имел ген *bla*_{OXA-23}. Оригинальный «итальянский клон» ST78Pas продуцировал карбапенемазу OXA-58, позднее сообщалось о его вариантах, имевших OXA-23-подобные карбапенемазы [1, 21, 22]. ST78Pas-изоляты, выделенные во Французской Гвиане, также обладали OXA-23-подобной карбапенемазой [24], в то время как ST78Pas-изоляты, полученные в Майами, Германии и Кувейте, были носителями *bla*_{OXA-40}-подобного гена [4, 18, 23]. Основным механизмом резистентности к карбапенемам среди изолятов *A. baumannii*, исследованных нами, стала продукция OXA-40-подобной карбапенемазы OXA-72. Ген *bla*_{OXA-72} был выявлен у 85% изолятов, представлявших 12 из 15 Oxford-сиквенс-типов.

Молекулярные характеристики клона CC944Oxf/ST78Pas, представленные в настоящей работе, были идентичны описанию двух изолятов *A. baumannii*, полученных от пациентов из России немецкими авторами [18]. Эти изоляты принадлежали к ST78Pas, являлись носителями генов *bla*_{OXA-72} и *bla*_{CTX-M-115}. Кроме того, в нашей лабора-

тории мы выполнили МЛСТ двух карба-Р изолятов *A. baumannii*, выделенных в двух разных стационарах г. Перми в 2014 г. Эти изоляты также принадлежали к CC944Oxf/ST78Pas (изоляты №945 и 946 в базе данных МЛСТ *A. baumannii* [14]). Отсюда следует, что клон CC944Oxf/ST78Pas, являющийся носителем генов OXA-40-подобной карбапенемазы *bla*_{OXA-72} и β -лактамазы расширенного спектра *bla*_{CTX-M-115}, может быть эндемичным для карба-Р *A. baumannii* в России.

Механизмы, которые способствуют приобретению и распространению определённых групп OXA-карбапенемаз, остаются неясными. Генетическое окружение и характеристики плазмид гена *bla*_{OXA-40} отличаются от таковых у генов *bla*_{OXA-23} или *bla*_{OXA-58}. В частности, *bla*_{OXA-40}-подобные гены локализованы не только на хромосомах, но и на самопередающихся (self-transmissible) плазмидах, что обеспечивает возможность для горизонтального распространения этих генов [10]. Кроме того, экспериментально показано, что кодируемые плазмидами *bla*_{OXA-40}-подобные гены могут секретироваться в составе бактериальных везикул (экзосом), образованных наружной мембраной [16].

Наконец, плазмиды, несущие *bla*_{OXA-40}, содержат гены системы токсин/антитоксин, что предполагает их стабильность [25]. Таким образом, высокая трансмиссивность плазмид, содержащих *bla*_{OXA-40}-подобные гены, в сочетании с их стабильностью может объяснить появление и распространение различных генотипов *A. baumannii*, продуцирующих OXA-40-подобные карбапенемазы. Наши данные о выраженном разнообразии генотипов (12 различных Oxford-сиквенс-типов) среди изолятов, несущих *bla*_{OXA-40}-подобный ген *bla*_{OXA-72}, поддерживают эту гипотезу.

Заключение

В заключение, наши данные показали доминирование двух клонов среди карба-Р изолятов *A. baumannii* в г. Москве. Один из них, CC92Oxf/CC2Pas, распространён по всему миру. Второй клон, CC944Oxf/ST78Pas, несущий гены *bla*_{OXA-72} и *bla*_{CTX-M-115}, может оказаться эндемичным для московского региона и, возможно, для России в целом. Таким образом, не исключено, что отдельные клоны *A. baumannii*, обладающие благоприятным генетическим фоном, спорадически возникают и независимо эволюционируют на разных территориях, приобретая дополнительные конкурентные преимущества, например, гены резистентности. Очевидно, что такие клоны могут распространяться как внутри страны, так и между странами. Для мониторинга изменений эпидемиологии карба-Р *A. baumannii* и улучшения контроля за распространением этих опасных бактерий необходимы дальнейшие исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Carretto E., Barbarini D., Dijkshoorn L., van der Reijden T.J., Brisse S., V. Passet, Farina C. Widespread carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* clones in Italian hospitals revealed by a multicenter study. *Infect Genet Evol* 2011; 11: 1319–1326.
2. Da Silva G.J., Quinteira S., Bértolo E., Sousa J.C., Gallego L., Duarte A., Peixe L. Long-term dissemination of an OXA-40 carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* clone in the Iberian Peninsula. *J Antimicrob Chemother* 2004; 54: 255–258.
3. Di Popolo A., Giannouli M., Triassi M., Brisse S., Zarrilli R. Molecular epidemiological investigation of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains in four Mediterranean countries with a multilocus sequence typing scheme. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17: 197–201.
4. Munoz-Price L.S., Arheart K., Nordmann P., Boulanger A.E., Cleary T., Alvarez R., Pizano L., Namias N., Kett D.H., Poirel L. Eighteen years of experience with *Acinetobacter baumannii* in a tertiary care hospital. *Crit Care Med* 2013; 41: 2733–2742.
5. Principe L., Piazza A., Giani T., Bracco S., Caltagirone M.S., Arena F., Nucleo E., Tammaro F., Rossolini G.M., Pagani L., Luzzaro F. Epidemic diffusion of OXA-23-producing *Acinetobacter baumannii* isolates in Italy: results of the first cross-sectional countrywide survey. *J Clin Microbiol* 2014; 52: 3004–3010.
6. Vincent J.L., Rello J., Marshall J., Silva E., Anzueto A., Martin C.D., Moreno R., Lipman J., Gomersall C., Sakr Y., Reinhart K. 2009. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA* 2009; 302: 2323–2329.
7. Villalón P., Valdezate S., Cabezas T., Ortega M., Garrido N., Vindel A., Medina-Pascual M.J., Saez-Nieto J.A. Endemic and epidemic *Acinetobacter baumannii* clones: a twelve-year study in a tertiary care hospital. *BMC Microbiol* 2015; 15: 47.
8. Fournier P.E., Richet H. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. *Clin Infect Dis* 2006; 42: 692–699.
9. Lolans K., Rice T.W., Munoz-Price L.S., Quinn J.P. Multicity outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates producing the carbapenemase OXA-40. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006; 50: 2941–2945.
10. Da Silva G.J., Domingues S. Insights on the horizontal gene transfer of carbapenemase determinants in the opportunistic pathogen *Acinetobacter baumannii*. *Microorganisms* 2016; 4 (3)pii: E29.
11. Potron A., Poirel L., Nordmann P. Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms and epidemiology. *Int J Antimicrob Agents* 2015; 45: 568–585.
12. Karah N., Sundsfjord A., Townner K., Samuelsen Ø. Insights into the global molecular epidemiology of carbapenem non-susceptible clones of *Acinetobacter baumannii*. *Drug Resist Updat* 2012; 15: 237–247.
13. Zarrilli R., Pournaras S., Giannouli M., Tsakris A. Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. *Int J Antimicrob Agents* 2013; 41: 11–19.
14. *Acinetobacter baumannii* MLST — база данных, <http://pubmlst.org/abau-mannii/>.
15. Giannouli M., Antunes L.C., Marchetti V., Triassi M., Visca P., Zarrilli R. Virulence-related traits of epidemic *Acinetobacter baumannii* strains belonging to the international clonal lineages I–III and to the emerging genotypes ST25 and ST78. *BMC Infect Dis* 2013; 13: 282.
16. Longo F., Vuotto C., Donelli G. Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*. *New Microbiol* 2014; 37: 119–127.
17. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Скленова Е.Ю., Иванчик Н.В., Тимохова А.В., Дехнич А.В. Антибиотикорезистентность нозокомальных штаммов *Acinetobacter* spp. в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2014. — Т. 16. — № 4. — С. 266–272. / Sukhorukova M.V., Ejdel'shtejn M.V., Skleenova E.YU., Ivanchik N.V., Timokhova A.V., Dekhnych A.V. Antibiotikorezistentnost' nozokomikal'nykh shtammov *Acinetobacter* spp. v stacionarakh Rossii: rezul'taty mnogotsentrovogo epidemiologicheskogo issledovaniya MARAFON v 2011–2012 gg. Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya 2014; 16: 4: 266–272. [in Russian]
18. Pfeifer Y., Hunfeld K.P., Borgmann S., Maneg D., Blobner W., Werner G., Higgins P.G. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* ST78 with OXA-72 carbapenemase and ESB gene blaCTX-M-115. *J. Antimicrob Chemother* 2016; 71: 1426–1428.
19. Solomenniy A., Goncharov A., Zueva L. Extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* belonging to the international clonal lineage I in a Russian burn intensive care unit. *Int. J Antimicrob Agents* 2015; 45: 525–528.
20. Edelstein M., Pimkin M., Palagin I., Edelstein I., Strachounski L. Prevalence and molecular epidemiology of CTX-M extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Russian hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 3724.
21. Woodford N., Ellington M.J., Coelho J.M., Turton J.F., Ward M.E., Brown S., Amyes S.G., Livermore D.M. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 27 (4): 351–353.
22. Giannouli M., Cuccurullo S., Crivaro V., Di Popolo A., Bernardo M., Tomasone F., Amato G., Brisse S., Triassi M., Utili R., Zarrilli R. Molecular epidemiology of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a tertiary care hospital in Naples, Italy, shows the emergence of a novel epidemic clone. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 1223–1230.
23. Mamma C., Bonura C., Aleo A., Calà C., Caputo G., Cataldo M.C., Di Benedetto A., Distefano S., Fasciana T., Labisi M., Sodano C., Palma D.M., Giammanco A. Characterization of *Acinetobacter baumannii* from intensive care units and home care patients in Palermo, Italy. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17: E12–15.
24. Vali L., Dashti K., Opazo-Capurro A.F., Dashti A.A., Al Obaid K., Evans B.A. Diversity of multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* population in a major hospital in Kuwait. *Front Microbiol* 2015; 6: 743.
25. Mosqueda N., Gato E., Roca I., Lopez M., de Alegria C.R., Fernandez Cuenca F., Martinez-Martinez L., Pachon J., Cisneros J.M., Rodriguez-Bano J. Characterization of plasmids carrying the blaOXA-24/40 carbapenemase gene and the genes encoding the AbkA/AbkB proteins of a toxin/antitoxin system. *Antimicrob Chemother* 2014; 69: 2629–2633.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Чеботарь И. В. — д. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологии, ФГАУ «Национальный научно-практический центр здоровья детей» Минздрава России, Москва

Крыжановская О. А. — к. м. н., научный сотрудник лаборатории микробиологии, ФГАУ «Национальный научно-практический центр здоровья детей» Минздрава России, Москва

Алябьева Н. М. — к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии, ФГАУ «Национальный научно-практический центр здоровья детей» Минздрава России, Москва

Савинова Т. А. — к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории микробиологии, ФГАУ «Национальный научно-практический центр здоровья детей» Минздрава России, Москва

Бочарова Ю. А. — научный сотрудник лаборатории микробиологии, ФГАУ «Национальный научно-практический центр здоровья детей» Минздрава России, Москва

Лазарева А. В. — к. м. н., заведующая лабораторией микробиологии, ФГАУ «Национальный научно-практический центр здоровья детей» Минздрава России, Москва

Поликарпова С. В. — к. м. н., заведующая лабораторией микробиологии, Городская клиническая больница №15 им. О. М. Филатова, Москва

Карасева О. В. — д. м. н., заместитель директора по научной работе, руководитель отдела сочетанной травмы, анестезиологии и реанимации, НИИ неотложной детской хирургии и травматологии, Москва

Маянский Н. А. — д. м. н., заведующий лабораторным отделом, ФГАУ «Национальный научно-практический центр здоровья детей» Минздрава России, Москва

Значимость микробиологического мониторинга в современной системе профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи

Е. В. ШАТАЛОВА¹, *О. В. ПАРАХИНА¹, А. И. КРАСНОУХОВ²

¹ Курский государственный медицинский университет, Курск

² Курская областная клиническая больница, Курск

The Importance of Microbiological Monitoring in the Modern System of Prevention of Healthcare-Associated Infections

E. V. SHATALOVA¹, *O. V. PARAKHINA¹, A. I. KRASNOUKHOV²

¹ Kursk State Medical University, Kursk

² Kursk Regional Clinical Hospital, Kursk

С целью определения значимости микробиологического мониторинга в современной системе профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), изучены этиологическая структура и уровень резистентности значимых возбудителей нозокомиальных инфекций, выделенных от больных многопрофильных стационаров г. Курска за 2014–2016 гг. В структуре клинической флоры преобладают бактериальные и кандида-бактериальные ассоциации (51,9%), что не согласуется с результатами подобных исследований. Доминирующим ассоциантом являются грибы рода *Candida* spp. (15,8%), *Pseudomonas aeruginosa* (12,3%), третью позицию занимают коагулазонегативные стафилококки (8,7%). Отмечены общие тенденции к нарастанию антибиотикорезистентности к традиционным препаратам и значительная вариабельность к современным антибиотикам, что в современных условиях чётко определяет две тенденции — частое изменение видового состава ассоциантов и появление проблемы лекарственной устойчивости. Следовательно, единственным ориентиром для выбора адекватной терапии нозокомиальных инфекций должны быть данные микробиологического мониторинга как основного компонента системы профилактики ИСМП.

Ключевые слова: ИСМП, нозокомиальные инфекции, микробиологический мониторинг, значимость.

The article studies the etiologic structure and the level of resistance of significant pathogens of nosocomial infections isolated from patients in the multi-purpose hospitals of Kursk in 2014–2016 in order to determine the significance of microbiological monitoring in the modern system of preventing healthcare-associated infections (HAIs). The structure of the clinical flora is dominated by bacterial and *Candida*-bacterial associations (51.9%), which is not consistent with the results of similar studies. The dominant associates are fungi of the *Candida* genus (15.8%), *Pseudomonas aeruginosa* (12.3%), the third place is occupied by coagulase-negative staphylococci (8.7%). There is a general tendency to increase antibiotic resistance to traditional drugs and significant variability to modern antibiotics, which under modern conditions clearly defines two trends — frequent changes in the species composition of associates and the emergence of the problem of drug resistance. Consequently, the only guideline for the selection of adequate therapy for nosocomial infections should be the data of microbiological monitoring as the main component of HAIs prevention system.

Keywords: HAIs, nosocomial infections, microbiological monitoring, significance.

Введение

Актуальность профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), на современном этапе не вызывает сомнений.

Несмотря на успехи практического здравоохранения, к концу XX — началу XXI столетия, проблема ИСМП приобретает всё большую медицинскую значимость, являясь ещё одной «болезнью цивилизации» [1].

В рамках новой национальной концепции, утверждённой главным государственным санитарным врачом РФ Г.Г. Онищенко 6 ноября 2011 г. использовано унифицированное определение случая внутрибольничной инфекции — ИСМП — Healthcare-associated infections (HAIs), что соответствует терминологии ВОЗ, гармонизации отечественных документов с международными требованиями и позволяет проводить сравнение между показателями заболеваемости в разных стационарах и странах. Однако в России проблема ИСМП всё же наиболее актуальна для стационаров с применением терминов «нозокомиальная» (НИ) или «ятрогенная» инфекции [2].

© Коллектив авторов, 2018

*Адрес для корреспонденции: E-mail: parahina-1970@mail.ru

Таблица 1. Структура значимых возбудителей нозокомиальных инфекций (2014–2016 гг.)

Микроорганизмы	Число штаммов, выделенных		Частота выделения
	в монокультуре	из ассоциации	
Грамотрицательные бактерии:	92 /25,1	59 /16,2	151 /41,3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32 /8,8	45 /12,3	77 /21,1
<i>Acinetobacter</i> spp.	35 /9,6	5 /1,3	40 /10,9
<i>E.coli</i>	25 /6,8	9 /2,5	34 /9,3
Грамположительные бактерии:	57 /15,6	73 /19,9	130 /35,5
Коагулазонегативные стафилококки	25 /6,9	32 /8,7	57 /15,6
<i>Staphylococcus aureus</i>	22 /6,0	27 /7,4	49 /13,4
Прочие	10 /2,7	14 /3,8	24 /6,5
Грибы рода <i>Candida</i> spp.	27 /7,4	58 /15,8	85 /23,2
Всего	176 /48,1	190 /51,9	366 /100

Примечание. Числитель — абсолютное число; знаменатель — % из 366 изученных штаммов.

Анализ литературы показывает, что этиология НИ и антибиотикорезистентность их возбудителей разнообразны [3]. С учётом этого, блок параметров, связанных с микробиологическим мониторингом (изучение этиологической структуры НИ, определение видового состава возбудителей и выявление спектра их чувствительности к антибактериальным препаратам) имеют в отделениях стационаров любого профиля первостепенное значение.

Цель исследования — анализ структуры и уровня антибиотикорезистентности этиологически значимых возбудителей НИ, выделенных от больных многопрофильных стационаров г. Курска за 2014–2016 гг.

Материал и методы

Исследование выполнено на базе бактериологических лабораторий стационаров г. Курска. В работе использованы результаты бактериологических исследований различного репрезентативного клинического материала от больных с гнойно-воспалительными процессами многопрофильных стационаров, находившихся на лечении в период с 2014 по 2016 гг.

Критериями для включения в исследование были появление сочетания клинических, инструментальных и лабораторных признаков инфекции после 48 ч. от момента поступления в стационар. Источником выделения патогенов служили гнойное отделяемое, моча и кровь. Выделение бактерий и оценку клинической значимости осуществляли в соответствии с общепринятыми требованиями [4].

Для видовой идентификации микроорганизмов, наряду с классическими методами, использовали микробиологический анализатор Sceptor (Becton Dickinson, США) и диагностические биохимические тест-системы Micro-Test («Lachema», Чехия).

Для выделения грибов рода *Candida* применяли среду Сабуро и хромогенный агар. Агар Сабуро использовали для выделения и оценки морфологических особенностей колоний гриба (гладкость, шероховатость, пигмент, консистенция). Хромогенный агар (Candida ID-bioMerieux, Франция) позволяет по пигментации колоний дифференцировать вид *C.albicans* (голубой цвет колоний) от прочих видов не-albicans (белый цвет колоний). Дальнейшую идентификацию грибов проводили с помощью тест-системы «Mycotube» (BBL, США), которая основана на принципе ферментативной активности грибов.

Определение чувствительности выделенных штаммов к антибактериальным препаратам проводили диско-диффузионным методом в соответствии с методическими указаниями [5]. С учётом рода выделенных бактерий проводилось определение чувствительности к следующим препаратам: гентамицин, тобрамицин, амикацин, цефтазидим, ципрофлоксацин, имипенем, карбенициллин, полимиксин М, стрептомицин.

Чувствительность грибов к антимикотикам оценивали с помощью тест-системы «Fungi-test» (Bio-Rad, США), воспроизводящий стандарт M27-A2 NCCLS и включающий 6 препаратов: флуцитозин, амфотерицин В, миконазол, кетоконазол, интраконазол и флуконазол.

Результаты исследования

Несмотря на устойчивую тенденцию к возрастанию роли грамположительных бактерий [6], полирезистентные штаммы грамотрицательных факультативных микроорганизмов представляют серьёзную проблему [7]. Наравне с такими «классическими» возбудителями НИ, как *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., отмечается возрастание этиологической роли микроорганизмов, ранее часто упоминаемых как «оппортунистическая» микрофлора — *Acinetobacter* spp., *Serratia* spp., *Enterobacter* spp. и др. [8] и реальной проблемой современности являются грибы рода *Candida* spp. [9, 10], всё чаще встречающиеся в различных ассоциациях с бактериями.

При изучении этиологической структуры возбудителей НИ, выделенных от больных многопрофильных стационаров г. Курска за период 2014–2016 гг. выявлено следующее: удельный вес значимых грамотрицательных бактерий составил 41,3% из 366 изученных штаммов (преобладают *P.aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. и *E.coli* — 21,1%, 10,9% и 9,3%, соответственно); грамположительная бактериальная флора, прежде всего *Staphylococcus* spp., составила 35,5% (130/366), в том числе *S.aureus* — 13,4% и коагулазонегативные стафилококки — 15,6%; удельный вес грибковой флоры (во всех случаях грибы рода *Candida* spp.) составил 23,2% (85/366), что отличается от данных литературы [3, 6] (табл. 1).

Следует отметить, что усовершенствование методов бактериологической диагностики позволило выявить из всех 366 изученных штаммов 190 (51,9%) культур, которые входили в состав различных ассоциаций (см. табл. 1). Анализ частоты выделения монокультур и ассоциаций из различных составляющих свидетельствует о преобладании бактериальных и кандида-бактериальных ассоциаций. Нами отмечено, что доминирующим ассоциантом являются грибы рода *Candida* spp.

Таблица 2. Чувствительность этиологически значимых возбудителей НИ к антимикробным препаратам

Препарат	Возбудители			
	<i>Staphylococcus</i> spp. n=106	<i>E.coli</i> n=34	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> n=77	<i>Acinetobacter</i> spp. n=40
Аминогликозиды:				
Гентамицин	29/27,3	—	24/31,2	14/35,0
Тобрамицин	91/85,8	29/85,2	52/67,5	6/15,0
Амикацин	48/45,3	30/88,2	41/53,2	7/17,5
Цефалоспорины				
Цефтазидим	38/35,8	17/50,0	27/35,1	16/40,0
Фторхинолоны				
Ципрофлоксацин	54/50,9	22/64,7	24/31,2	15/37,5
Карбапенемы				
Имипенем	97/91,5	32/94,1	62/80,5	34/85,0
Пенициллины				
Карбенициллин	—	20/58,8	40/51,9	—
Полимиксины				
Полимиксин В	—	—	59/76,6	15/37,5
Стрептомицины				
Стрептомицин	40/37,7	19/55,9	9/11,7	—

Примечание. Числитель — абсолютное число; знаменатель — %; «—» — исследования не проводились.

(15,8%). Из грамотрицательных бактерий в ассоциации с грибами преобладают *P.aeruginosa* (12,3%), а из грамположительных — коагулазонегативные стафилококки (8,7%) (см. табл. 1).

Известно, что антибактериальная терапия статистически достоверно снижает летальность и является абсолютно необходимым компонентом интенсивной терапии гнойно-воспалительных процессов у иммунокомпрометированных больных, находящихся в отделениях больницы. Однако единственным ориентиром для выбора адекватной терапии НИ, особенно смешанной этиологии, является получение локальных данных мониторинга чувствительности возбудителей к антимикробным препаратам. Это и является основой для создания формуляров рациональной эмпирической антибиотикотерапии.

Проведённый нами мониторинг чувствительности к антимикробным препаратам микроорганизмов, выделенных от больных, позволяет констатировать общие тенденции нарастания антибиотикорезистентности изученных патогенов.

Все изученные нами штаммы обладали разными антибиотикограммами к традиционным препаратам и значительной вариабельностью к современным антибиотикам с выраженной полирезистентностью у псевдомонад.

При оценке результатов определения чувствительности изученных нами штаммов к действию антимикробных препаратов обращает на себя внимание тот факт, что наиболее эффективными в отношении *Staphylococcus* spp. были имипенем и тобрамицин (91,5 и 85,8% чувствительных штаммов, соответственно) (табл. 2). Наименьшей антистафилококковой активностью, согласно нашим результатам исследования, обладают гентамицин (27,3%) и цефтазидим (35,8%).

У представителей грамотрицательной микрофлоры (*E.coli* и *P.aeruginosa*) уровень устойчивос-

Таблица 3. Чувствительность грибов рода *Candida* spp. к антимикотикам

Культура/Препарат	Число штаммов	Из них чувствительны:
<i>Candida</i> spp.	85	
Флуцитозин		78/91,7
Амфотерицин В		83/97,6
Миконазол		61/71,7
Кетоконазол		66/77,6
Интраконазол		70/82,3
Флуконазол		71/83,5

Примечание. Числитель — абсолютное число; знаменатель — %.

ти к цефалоспорином и фторхинолонам был выше, чем к аминогликозидам.

Наиболее эффективным препаратом в отношении *E.coli* и *P.aeruginosa* является препарат из класса карбапенемов — имипенем (94,1 и 80,5% чувствительных штаммов, соответственно), что противоречит данным литературы [2].

Оценка результатов определения чувствительности *Acinetobacter* spp. выявила следующие закономерности. От 60,0 до 85,0% циркулирующих в отделениях стационаров города штаммов этого микроорганизма устойчивы к тобрамицину, амикацину, гентамицину, цефтазидиму, ципрофлоксацину, полимиксину. Высокая активность была отмечена только у имипенема — 34 (85,0%) из 40 изученных штаммов (см. табл. 2).

Чувствительность грибов к антимикотикам представлена в табл. 3. Наше исследование показало преимущество амфотерицина и флуцитозина в отношении грибов рода *Candida* spp., среди которых были чувствительны 97,6 и 91,7% изученных штаммов, соответственно, в то время как по отношению к имидазолам и триазолам эти показатели составили от 71,7 до 83,5%.

Заключение

Таким образом, анализ проведённых нами микробиологических исследований показал, что

в этиологической структуре гнойно-воспалительных процессов у иммунокомпрометированных больных многопрофильных стационаров г. Курска за период 2014–2016 гг. доминируют грамотрицательные микроорганизмы — 41,3% (*P.aeruginosa* и *Acinetobacter* spp. — 21,1 и 10,9%, соответственно), с нарастающей тенденцией полирезистентных штаммов, что не сопоставимо с результатами подобных исследований [6, 8].

Вторую позицию по частоте занимают грамположительные микроорганизмы (35,5%), доминирующими из которых являются коагулазонегативные стафилококки (15,6%) и *S.aureus* (13,4%) с разными антибиотикограммами. Наиболее эффективными в отношении *Staphylococcus* spp. были карбапенемы (имипенем) и тобрамицин (91,5 и 85,8% чувствительных штаммов, соответственно), что не согласуется с данными литературы [3].

Крайне тревожным фактом является нарастание в этиологической структуре НИ смешанных инфекций Кандида-бактериальной природы [9, 11].

Нами отмечено, что 51,9% штаммов из 366 изученных были выделены из различных ассоциаций. Причём, доминирующим ассоциантом были грибы рода *Candida* spp. (15,8%).

Следует отметить, что рост числа таких тенденций в современных условиях чётко определяет несколько тенденций — частое изменение ви-

дового состава ассоциантов, появление проблемы лекарственной устойчивости, и, в конечном итоге, — проблему формирования «госпитальных» штаммов.

Таким образом, суммируя всё выше сказанное, следует отметить, что полученные нами данные имеют принципиальное значение и наглядно иллюстрируют важность проведения микробиологического мониторинга в ЛПУ, так как известно, что между отдельными исследованиями и географическими регионами отмечаются значительные вариации этих показателей.

Это позволяет сделать вывод, что единственным ориентиром для выбора адекватной терапии НИ должны быть данные мониторинга чувствительности к антимикробным препаратам ведущей микрофлоры в стационарах региона и в настоящее время, что подтверждает данные литературы [12] об обязательном включении блока параметров микробиологического мониторинга как основного компонента системы профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.

Благодарности. Авторы благодарят заведующую бактериологической лаборатории Шевцову Юлию Александровну ОБУЗ «Курская городская больница скорой медицинской помощи» за организационную поддержку исследования.

ЛИТЕРАТУРА

- Сёмина Н.А., Ковалева Е.П., Акимкин В.Г. Эпидемиология и профилактика внутрибольничных инфекций в Российской Федерации на современном этапе. Материалы IX съезда Всерос. научн.-практ. общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. — М.: 2007. — С. 74–75. / Syomina N.A., Kovaleva E.P., Akimkin V.G. Ehpidemiologiya i profilaktika vnutribol'nicnykh infekcij v Rossijskoj Federacii na sovremennom etape. Materialy IX s'ezda Vseros. nauchn.-prakt. obshchestva ehpidemiologov, mikrobiologov i parazitologov. M.: 2007; 74–75. [in Russian]
- Яковлев С.В., Суворова М.П., Белобородов В.Б., Басин Е.Е., Елисеева Е.В., Коваленко С.В., Портягина У.С., Рог А.А., Руднов В.А., Барканова О.Н. Распространённость и клиническое значение нозокомиальных инфекций в лечебных учреждениях России: исследование ЭР-ГИНИ. — Антибиотики и химиотер. — 2016. — Т. 61. — № 5–6. — С. 32–42. / Yakovlev S.V., Suvorova M.P., Beloborodov V.B., Basin E.E., Eliseeva E.V., Kovelenov S.V., Portyagina U.S., Rog A.A., Rudnov V.A., Barkanova O.N. Rasprostranennost' i klinicheskoe znachenie nozokomial'nykh infekcij v lechebnykh uchrezhdeniyah Rossii: issledovanie EHRGINI. — Antibiotiki i khimioter 2016; 61: 5–6: 32–42. [in Russian]
- Федосеев А.В., Сидоров Р.В., Инютин А.С., Чекушин А.А., Кроливец Д.В. Особенности микробиологического пейзажа раневой поверхности у больных с синдромом диабетической стопы. Антибиотики и химиотер. — 2016. — Т. 61. — № 5–6. — С. 21–24. / Fedoseev A.V., Sidorov R.V., Inyutin A.S., Chekushin A.A., Krolivec D.V. Osobennosti mikrobiologicheskogo pejzazha ranevoj poverkhnosti u bol'nykh s sindromom diabeticheskoy stopy. Antibiotiki i khimioter 2016; 61: 5–6: 21–24. [in Russian]
- Приказ МЗ СССР №535 от 22.04.1985. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений. М.: 1985. — С. 95. / Prikaz MZ SSSR №535 ot 22.04.1985. Ob unifikacii mikrobiologicheskikh (bakteriologicheskikh) metodov issledovaniya, primenyamykh v kliniko-diag-
- nosticheskikh laboratoriyakh lechebno-profilakticheskikh uchrezhdenij. M.: 1985; 95. [in Russian]
- Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (МУК 4.2.1890-04). М.: 2004. / Metodicheskie ukazaniya po opredeleniyu chuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antibakterial'nykh preparatam (MUK 4.2.1890-04). M.: 2004. [in Russian]
- Маслов Ю.Н., Фельдблюм И.В., Пегушина О.Г., Суханов С.Г. Анализ структуры гноеродной микрофлоры кардиохирургического стационара. Журн микробиол. — 2011. — № 6. — С. 80–85. / Maslov YU.N., Fel'dblyum I.V., Pegushina O.G., Sukhanov S.G. Analiz struktury gnoerodnoj mikroflory kardiokhirurgicheskogo stacionara. Zhurn mikrobiol 2011; 6: 80–85. [in Russian]
- Ruden H., Gastmeier P., Daschner F., Schumacher M. Nosocomial and community-acquired infections in Germany. Summary of the results of the first national prevalence study (NIDEP). Infection 1997; 25: 4: 199–202.
- Смирнов В.М., Илюкевич Г.В., Левшина Н.Н. Антибиотикорезистентность грамотрицательных возбудителей госпитальных инфекций в ОРИТ многопрофильных стационаров. Антибиотики и химиотер. — 2009. — № 11. — С. 25–31. / Smirnov V.M., Ilyukevich G.V., Levshina N.N. Antibiotikorezistentnost' gramotricatel'nykh vozбудitelej gospital'nykh infekcij v ORIT mnogoprofil'nykh stacionarov. Antibiotiki i khimioter 2009; 11: 25–31. [in Russian]
- Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции: рук. для врачей. М.: Бинам — пресс, 2003. — С. 440. / Sergeev A.YU., Sergeev YU.V. Gribkovye infekcii: ruk. dlya vrachej. M.: Binam — press, 2003; 440. [in Russian]
- Lilic D. *Candida*. Chapter 16. Immunology of Fungal infections / eds.: G.D. Brown, M.G. Netea. — Netherlands: Springer, 2007; 487.
- Hogan D.A., Vik A., Kolter R. *Pseudomonas aeruginosa* quorum — sensing molecule influences *Candida albicans* morphology. Mol Microbiol 2004; 54: 5: 1212–1223.
- Онищенко Г.Г. Заболеваемость внутрибольничными инфекциями в Российской Федерации. Гигиена и санитария. — 2008. — № 3. — С. 4–6. / Onischenko G.G. Zaboлеваemost' vnutribol'nicnymi infekciyami v Rossijskoj Federacii. Gigiena i sanitariya 2008; 3: 4–6. [in Russian]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Шаталова Елена Васильевна — д. б. н., профессор, Курский государственный медицинский университет, Курск

Парахина Ольга Владимировна — к. п. н., ассистент, Курский государственный медицинский университет, Курск

Красноухов Анатолий Иванович — к. м. н., заведующий ожоговым отделением, Бюджетное медицинское учреждение «Курская областная клиническая больница» комитета здравоохранения Курской области, Курск

Моделирование клинической эффективности лекарственных препаратов с использованием бета-распределения (на примере антибиотикотерапии острого обструктивного бронхита у детей)

*О. В. ЖУКОВА, Т. М. КОЛЫШКИНА, В. Б. ФЕДОСЕЕВ

Нижегородская государственная медицинская академия МЗ РФ, Нижний Новгород

Modeling the Clinical Effectiveness of Drugs Using the Beta Distribution (on the Example of Antibiotic Therapy of Acute Obstructive Bronchitis in Children)

O. V. ZHUKOVA, T. M. KOLYSHKINA, V. B. FEDOSEEV

Nizhny Novgorod State Medical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation, Nizhny Novgorod

Цель исследования — моделирование клинической эффективности антибиотиков, используемых в терапии острого обструктивного бронхита у детей, с использованием бета-распределения. **Материал и методы.** Материалами для исследования служили данные антибиотикотерапии пациентов, госпитализированных в стационары медицинских организаций с острым обструктивным бронхитом. В исследование были включены истории болезни 1604 пациентов. Возраст пациентов составил от 0 до 18 лет. Для расчёта вероятности наступления клинического исхода использовано бета-распределение, которое применяется при описании вероятностей для массива биномиальных данных (тип болен — здоров) и ограничивается интервалом от 0 до 1. Параметры бета-распределения вычисляются на основе имеющихся экспериментальных данных. В качестве входных данных в модели использовались вероятности наступления клинических исходов (выздоровление, отсутствие эффекта). **Результаты.** В ходе исследования были построены кривые бета-распределения клинической эффективности анализируемых антибиотиков. Определена минимальная и максимальная достоверная клиническая эффективность анализируемых антибиотиков (95% доверительный интервал). **Выводы.** В результате проведённого анализа было определено, что наиболее эффективными с клинической точки зрения для использования в стационаре у детей с острым обструктивным бронхитом, являются антибиотики-макролиды группы азитромицина.

Ключевые слова: острый обструктивный бронхит, дети, антибиотики, клиническая эффективность, имитационное моделирование, бета-распределение, минимальная и максимальная достоверная клиническая эффективность.

The aim of the study was to simulate the clinical efficacy of antibiotics used in the treatment of acute obstructive bronchitis in children with the use of beta distribution. **Material and methods.** Materials for the study are based on data of antibiotic therapy of patients hospitalized with acute obstructive bronchitis. The study included clinical records of 1604 patients. The age of the patients ranged from 0 to 18 years. The beta distribution was used to calculate the probability of the clinical outcome, it describes the probabilities for a binomial data array (the «sick-healthy» type) and was limited to an interval from 0 to 1. The parameters of the beta distribution are calculated based on the available experimental data. The probability of occurrence of clinical outcomes (recovery, absence of effect) was used as the input data in the model. **Results.** Curves for the beta distribution of the clinical efficacy of the analyzed antibiotics were constructed in the course of the study. The minimal and maximal clinical efficacy of the analyzed antibiotics (95% confidence interval) was determined. **Conclusions.** As a result of the analysis, it was determined that antibiotics-macrolides of the azithromycin group were the most effective from the clinical point of view for in patient treatment of children with acute obstructive bronchitis.

Keywords: acute obstructive bronchitis, children, antibiotics, clinical efficacy, imitation modeling, beta distribution, minimal and maximal clinical efficacy.

Введение

Одним из основополагающих и предопределяющих направлений при планировании и определении приоритетных лечебных мероприятий яв-

ляется определение клинической эффективности лекарственной терапии. Использование результатов клинико-экономической оценки, включающую в себя и анализ клинической эффективности, может упорядочить систему назначения лекарственных препаратов, устранить назначение излишних лекарств, определив наиболее эффективные при той или иной нозологии. Сравнительная

© Коллектив авторов, 2018

Адрес для корреспонденции: 603950 Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1. Нижегородская ГМА

оценка качества двух и более методов профилактики, диагностики, лекарственного и нелекарственного лечения является основной методикой клинико-экономического анализа.

Вследствие отсутствия возможности проводить эксперименты на реальных объектах используется имитационное моделирование [1]. В последние годы фармакоэкономические исследования проводятся с использованием метода моделирования, преимуществом которого является не только анализ рассматриваемой проблемы с различных сторон, но и возможность прогнозирования события при недостаточности данных [2].

Цель исследования — моделирование клинической эффективности антибиотиков, используемых в терапии острого обструктивного бронхита у детей.

Материал и методы

Материалами для исследования служили данные по антибиотикотерапии пациентов, госпитализированных в стационары медицинских организаций с острым бронхитом, сопровождающимся бронхоспазмом. В исследование были включены истории болезни 1604 пациентов. Возраст пациентов составил от 0 до 18 лет.

Клинический исход антибиотикотерапии в данном исследовании предполагал два варианта: 1) положительный клинический эффект (выздоровление), 2) отрицательный клинический эффект. Мы предполагаем, что все экспериментальные данные являются множеством случайных чисел, подчиняющихся определённому статистическому распределению. Для расчёта вероятности наступления клинического исхода использовано бета-распределение [3]. Бета-распределение обычно применяется при описании вероятностей для массива биномиальных данных (типа болен — здоров). Бета-распределение в теории вероятностей и статистике ограничено интервалом от 0 до 1 и характеризуется двумя параметрами α и β . Параметры бета-распределения вычисляются на основе имеющихся экспериментальных данных. Если данные представлены для выборки из n событий (пациентов, для которых применялся исследуемый лекарственный препарат), при этом число успешных реализаций равно r (число положительных клинических исходов при использовании исследуемого антибиотика), то параметры α и β определяются как $\alpha=r$, $\beta=n-r$.

На основе бета-распределения с заданными для каждого из антибиотика параметрами генерировались выборки,

Таблица 1. Клиническая эффективность* курса антибиотикотерапии острого обструктивного бронхита

МНН	Клиническая эффективность
Цефотаксим	0,584
Цефтриаксон	0,546
Цефуроксим	0,512
Амоксициллин/клавуланат	0,561
Азитромицин	0,966
Кларитромицин	0,956
Спирамицин	0,920
Мидекамицин	0,850

Примечание. * — представлена в долях от единицы.

содержащие по 1000 случайных реализаций клинической эффективности.

На следующем этапе исследования был определён 95% доверительный интервал для значений клинической эффективности, полученных бета-распределением.

Результаты исследования

В анализируемом периоде при лечении острого бронхита с бронхоспазмом применялись три группы антибиотиков: β -лактамы (цефалоспорины, пенициллины) и макролиды. Наибольшее количество назначений приходилось на инъекционные цефалоспорины — 57,8%.

Из антибиотиков цефалоспоринового ряда использовались цефотаксим (56,9%), цефтриаксон (23,0%), цефуроксим (13,8%), цефазолин (6,3%). Цефазолин в дальнейшем анализе был исключен вследствие низкой частоты его назначения (менее 100 пациентов) и невозможностью объективной оценки его клинико-экономической составляющей.

Из группы защищённых пенициллинов использовались амоксициллин/клавулановая кислота — 16,3% назначений. Макролиды назначались в 25,9%. Из группы макролидов использовались азитромицин (65,6%), кларитромицин (9,5%), спирамицин (18,9%), мидекамицин (6%). Наибольшее количество случаев высокоэффективной антибактериальной терапии острого обструктивного бронхита (клинический эффект «выздоров-

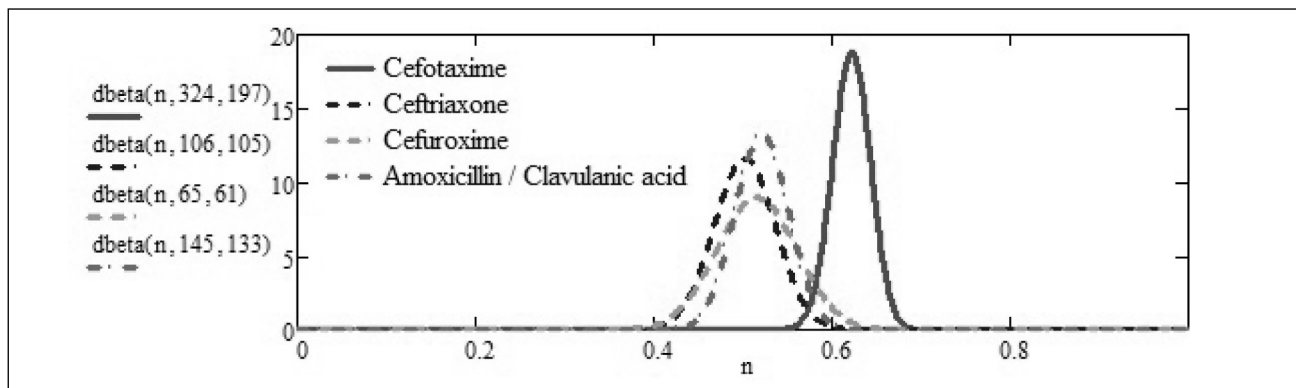


Рис. 1. Бета-распределение клинических исходов для β -лактамных антибиотиков, применяемых в лечении острого обструктивного бронхита у детей.

ление») наблюдалось при использовании макролидов. Клинические эффекты «значительное улучшение» и «выздоровление» для цефалоспоринов и защищённых пенициллинов отмечались при наличии сопутствующих заболеваний, таких как отит, синусит, тонзиллит. Эти заболевания зачастую сопровождаются лихорадкой, интоксикацией.

Невысокая эффективность цефалоспоринов и защищённых пенициллинов в терапии острого обструктивного бронхита при отсутствии сопутствующих заболеваний может указывать на аллергическую, атипичную бактериальную либо вирусную природу острого бронхита (табл. 1).

Для сравнения клинической эффективности бета-лактамов антибиотиков были построены кривые бета-распределения эффективности анализируемых антибиотиков (рис. 1).

Если кривая узкая и имеет сжатую форму, то результаты измерений (в нашем случае, вероятность наступления положительного клинического эффекта) обладают высокой степенью воспроизводимости. В случае, когда кривая будет иметь широкий, растянутый вид, воспроизводимость действия лекарственного препарата невысока. В ходе моделирования было получено, что наиболее эффективным из бета-лактамов антибиотиков является цефотаксим.

Для сравнения клинической эффективности антибиотиков макролидов были также построены кривые бета-распределения эффективности анализируемых лекарственных средств (рис. 2).

Кривая бета-распределения азитромицина узкая и сжатая, и смещена вправо, что свидетельствует о высокой клинической эффективности антибиотика при исследуемом заболевании, что доказывает целесообразность использования азитромицина.

Однако полученные в результате моделирования значения могут измениться при расчёте на другой выборке. Поэтому на следующем этапе исследования нами было определено, насколько существенны будут эти изменения, и какие минимальные интервалы значений покрывают реаль-

Таблица 2. Доверительная клиническая эффективность антибиотиков, используемых в терапии острого обструктивного бронхита у детей в стационаре

МНН	Min (95%)	Max (95%)
Цефотаксим	0,585	0,655
Цефтриаксон	0,446	0,559
Цефуроксим	0,429	0,602
Амоксициллин/клавуланат	0,472	0,571
Азитромицин	0,947	0,982
Кларитромицин	0,843	0,978
Спирамицин	0,855	0,992
Мидекамицин	0,664	0,950

ные точные значения искомых частот, т. е. какой минимальный интервал содержит реальное значение искомой клинической эффективности с вероятностью 95%. Такой интервал является в статистике 95% доверительным интервалом. С практической точки зрения 95% доверительный интервал означает, что 95% всех потенциальных выборок использования лекарственного препарата при изучаемой нозологии дадут значения клинической эффективности, попадающих в полученные интервалы, и лишь в 5% случаев значения частот выйдут за найденные пределы. Для этого была определена площадь под кривой бета-распределения клинических исходов для бета-лактамов антибиотиков, применяемых в лечении острого обструктивного бронхита у детей. Отсекали по 2,5% площади справа и слева. Соответствующие значения x принимали за минимальную доверительную клиническую эффективность (min — 95%) и минимальную доверительную клиническую эффективность (max — 95%) (табл. 2).

Из табл. 2 видно, что наиболее оптимальным из бета-лактамов является цефотаксим, для которого 95% доверительный интервал клинической эффективности составляет 0,585—0,655.

Из антибиотиков группы макролидов наиболее оптимальными являются препараты азитромицина (0,947—0,982). Для данных антибиотиков характерен наименьший интервал вероятной клинической эффективности при исследуемой нозологии.

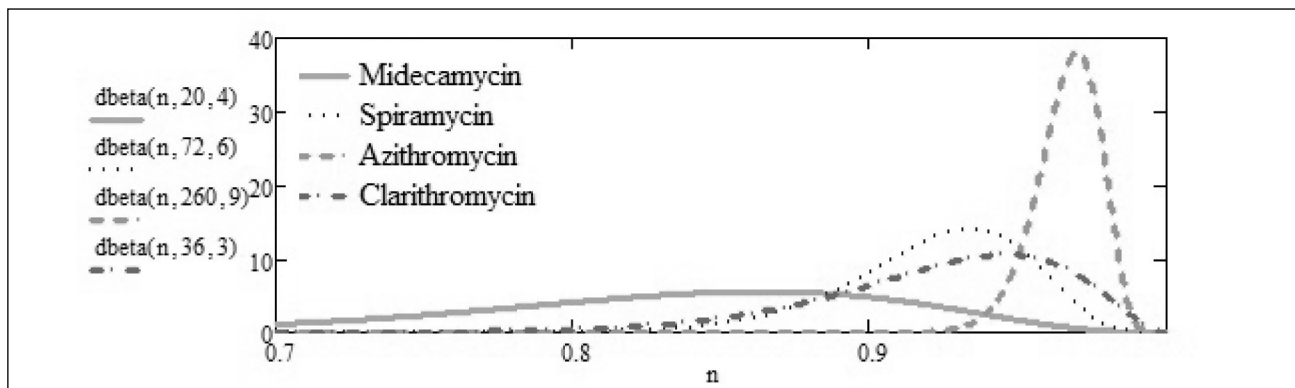


Рис. 2. Бета-распределение клинических исходов для антибиотиков — макролидов, применяемых в лечении острого обструктивного бронхита у детей.

Выводы

В результате проведенного анализа было определено, что наиболее эффективны с клинической точки зрения для использования в стационаре у детей с острым обструктивным бронхитом цефотаксим из группы бета-лактамов антибиотиков; азитромицин — из группы макролидов. Также в ходе исследования было показано, что предпочтительнее при остром обструктивном бронхите использование антибиотиков макролидного ряда. Полученные результаты согласу-

ются с полученными ранее нами результатами классического фармакоэкономического анализа антибиотикотерапии острого бронхита с обструкцией методом «затраты — эффективность», а также с данными по распределению анализируемых антибиотиков по уровням клинической эффективности по методу Фишберна [4].

Конфликт интересов. При выполнении данной работы у авторов отсутствовал конфликт интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Barton P., Bryan S., Robinson S. J. Modelling in the economic evaluation of health care: selecting the appropriate approach Health Serv Res Policy 2004; 9 (2): 110—118.
2. Куликов А.Ю., Нгуен Т.Т., Тихомирова А.В. Методология моделирования в фармакоэкономике. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. — 2011. — Т. 4. — № 4. — С. 8-16. / Kulikov A.Yu., Nguen T.T., Tikhomirova A.V. Metodologiya modelirovaniya v

farmakoeconomike. Sovremennaya farmakoeconomika i farmakoepidemiologiya 2011; 4 (4): 8—16. [in Russian]

3. Briggs A., Claxton K., Sculpher M. Decision Modelling for Health Economic Evaluation Oxford University Press, 2007; 237.
4. Zhukova O. V. Konyshkina, T. M., Kononova S. V. Fishburne's method and the classical method of pharmacoeconomic analysis in the evaluation of antibiotic treatment of acute and recurrent bronchitis in children Int J Pharm Pharm Sci 2015; 7 (11): 185—190.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Жукова Ольга Вячеславовна — к. ф. н., старший преподаватель кафедры управления и экономики фармации и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава России, Нижний Новгород

Коньшикина Татьяна Михайловна — к. м. н., доцент кафедры общей и клинической фармакологии ФГБОУ ВО

«Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава России, Нижний Новгород

Федосеев Виктор Борисович — д. х. н., профессор кафедры физического материаловедения ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского» Министерства образования и науки Российской Федерации, Нижний Новгород

Участие уральских учёных в разработке антибиотиков в 80—90 годах

*В. В. ЗАПАРИЙ¹, А. В. ДЕРЯБИНА²

¹ Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина, Екатеринбург

² Институт химии твердого тела Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург

Participation of Ural Scientists in the Development of Antibiotics in 1930—1940s

*V. V. ZAPARIY¹, A. V. DERYABINA²

¹ Ural Federal University named after the first President of Russia B. N. Yeltsin, Yekaterinburg

² Institute of Solid State Chemistry, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg

В 1930—1940 гг. профессором И. Я. Постовским и его учениками были проведены научно-исследовательские работы по синтезу сульфаниламидных соединений, были получены сульфидин, сульфазол, сульфатиазол. В описываемый период советские учёные находились в авангарде нового научного направления. Во время Великой Отечественной войны в г. Свердловске в ограниченные сроки было организовано промышленное производство сульфамидных препаратов на фармацевтическом заводе, а профессором Б. П. Кушелевским разработано лечение новыми лекарствами. Благодаря совместной работе химиков и врачей были спасены тысячи жизней раненых солдат и офицеров, а также гражданского населения. В военных условиях был создан первый в регионе отраслевой фармацевтический институт — Уральский филиал Всесоюзного химико-фармацевтического института им. С. Орджоникидзе. И. Я. Постовским был заложен фундамент для дальнейшего успешного развития в Уральском регионе научной школы фармацевтической химии.

Ключевые слова: химия, сульфидин, сульфамидные препараты, синтез, Урал, антибактериальная химиотерапия, Великая Отечественная война, институт, кафедра, учёный.

In the 1930s—1940s Professor I. Ya. Postovsky and his students carried out scientific research work on the synthesis of sulfonamides compounds; sulfide, sulfazole, sulfatiazole were obtained. During in this period, Soviet scientists were at the forefront of a new scientific direction. During the Great Patriotic War industrial production of sulfonamide drugs was organized in pharmaceutical factory in the city of Sverdlovsk in a limited time frame, and Professor B. P. Kushelevsky developed treatment with the use of the new medicines. The lives of thousands of wounded soldiers and officers were saved thanks to the joint work of chemists and doctors. The region's first industry-pharmaceutical Institute — the Ural branch of All-Union Chemical and Pharmaceutical Institute n. a. S. Ordzhonikidze — was created in military conditions. I. Ya. Postovsky laid the foundation for the further successful development of the scientific school of pharmaceutical chemistry in the Ural region.

Keywords: chemistry, sulfides, sulfamide drugs, synthesis, Ural, antibacterial chemotherapy, Great Patriotic War, Institute, Department, scientist.

Введение

1930 годы характеризуются стремительным развитием разных отраслей науки и техники, особенно оно усиливается с началом Второй Мировой войны, когда мир вступил в период научно-технической революции. В это время происходит стремительное развитие фармацевтической химии, в частности исследований направленных на создание соединений, обладающих антибактериальными свойствами.

Особую роль сыграли исследования в области создания и совершенствования сульфамидных соединений. Сульфаниламиды — лекарственные вещества, содержащие сульфамидную

группу, большей частью производные бензо-сульфамида. Впервые соединение синтезировал австрийский химик Пауль Гельмо в 1908 г., которое получило впоследствии название «белый стрептоцид». В 1934 г. немецкий бактериолог Герхард Домагк, работая с сульфамидными азокрасителями, обнаружил антибактериальное действие у представителя данного класса соединений — прontosила (красный стрептоцид). Однако учёный предполагал, что терапевтический эффект прontosила обусловлен его красящими свойствами.

Начало взрывного интереса к синтезу новых сульфамидных соединений положили работы французских и английских учёных 1936 г., которые изучив превращения прontosила в организме, показали, что продуктом его распада является сульфаниламид, обладающий терапевтическим

© Коллектив авторов, 2017

*Адрес для корреспонденции: E-mail: vvzap@mail.ru

действием, что привело к появлению в Европе и США многочисленных работ по синтезу новых соединений.

Ведущую роль в развитии этого направления химической науки сыграли советские и, в частности, уральские учёные. Именно об этой странице истории химической науки и хотелось бы остановиться авторам данной статьи.

Цель исследования — показать вклад известного учёного-химика, академика Исаака Яковлевича Постовского и его учеников в развитие в 1930—1940 гг. нового научного направления в мировой химии — синтеза сульфаниламидных соединений и становление химиотерапии новых препаратов в СССР.

Результаты и обсуждение

Во второй половине 1930 гг. в СССР, вскоре после сообщений в научной прессе об антибактериальных свойствах сульфаниламида, были начаты работы в этом направлении. Так, во Всесоюзном научно-исследовательском химико-фармацевтическом институте (ВНИХФИ) в Москве разрабатывали методику получения сульфаниламида для широкого клинического применения, а также проводили синтез новых сульфаниламидных соединений.

В Свердловске в Уральском индустриальном институте им. С. М. Кирова¹ на кафедре органической химии под руководством профессора Исаака Яковлевича Постовского начались работы по синтезу соединений, содержащих сульфамидную группу. В течение полутора лет И. Я. Постовским и Л. Н. Голдыревым было получено 25 новых соединений.

В начале 1938 г. в Журнале прикладной химии была опубликована статья Л. Н. Голдырева и И. Я. Постовского «К строению и фармакологическому действию веществ, содержащих группу SO_2NHR », в которой они описали получение серии сульфамидов с пониженной кислотностью амидной группы, путём замены водородов сульфамидной группы остатками оснований (пиперидина, бензиламина и α -аминопиридина). В этой работе был представлен способ получения нового соединения — сульфацина. Осенью 1937 г. эту субстанцию получили английские химики А. J. Ewins и Phillips. Заявка на патент нового соединения (M&B 693) была подана в ноябре 1937 г. британской компанией May & Baker, а в октябре 1938 г. M&B 693 вышел на британский рынок под торговым именем «Dagenan» [1].

Однако именно уральские учёные впервые в мире синтезировали сульфацина, который в дальнейшем получил в СССР название «сульфинидин». Доказательством этому служит получение еще в июле 1937 г. редакцией научного журнала статьи Л. Н. Голдырева и И. Я. Постовского. В чём действительно уступили наши специалисты иностранному учёному, так это в применении нового соединения в медицинской практике. Надо отметить, что советские исследователи в течение полутора лет пытались найти в г. Свердловске медицинское учреждение, которое могло бы провести испытание нового соединения [2].

В диссертационной работе в 1939 г. Леонидом Николаевичем Голдыревым был обобщён материал и представлен синтез нового препарата — сульфидина, как активного антибактериального средства.

В конце 1939 г. одновременно во ВНИХФИ (Москва) и в Свердловске на кафедре органической химии начинаются работы по синтезу тиазольного аналога сульфидина, в котором пиридиновый цикл был заменен тиазольным. В результате в течение трёх месяцев было создано новое соединение, получившее название сульфазол.

Апробация сульфидина проводилась клиницистами в Свердловском медицинском институте² коллективом факультетской терапевтической клиники под руководством профессора Бориса Павловича Кушелевского. Испытания сульфазола, полученного на кафедре органической химии, проводились весной 1940 г. в Кожно-венерологическом институте и в детской клинике Свердловского медицинского института под руководством профессора Е. С. Кроль-Кливанской. Наблюдения выявили, что сульфазол был менее токсичным по сравнению с сульфидином и не уступал ему по своей антибактериальной активности.

В связи с интенсивной работой по синтезу новых сульфамидных соединений в г. Свердловске возникает необходимость выхода из лабораторных масштабов на создание производственных установок по выпуску новых препаратов. На Свердловском фармацевтическом заводе под руководством директора С. К. Розенштейна организуется научно-экспериментальная лаборатория с целью расширить выпуск новых препаратов от килограммового производства до значительных показателей. В начале 1941 г. опытной заводской установкой были выпущены первые килограммы нового соединения сульфатиазола.

Сульфатиазол, отличающийся от сульфазола отсутствием метильной группы в тиазольном

¹ Уральский индустриальный институт им. С. М. Кирова (УИИ) с 1948 г. Уральский политехнический институт им. С. М. Кирова (УПИ), сегодня носит название Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина (УрФУ).

² Сегодня Уральский государственный медицинский университет.

цикле, был синтезирован учёными ВНИХФИ и получил название норсульфазол, в Свердловске этот препарат создали в декабре 1940 г.

В описываемый период в г. Свердловске, с одной стороны, имелся научный коллектив под руководством профессора И. Я. Постовского (рис. 1), проводящий исследования в области синтеза новых сульфамидных соединений на мировом уровне, с другой стороны, был наработан опыт в организации производства небольших партий сульфамидных соединений на Свердловском фармзаводе. Появляется возможность создания в г. Свердловске крупного производства сульфамидных препаратов. Такая задача была сформулирована наркомом здравоохранения РСФСР А.Ф. Третьяковым в личной беседе с профессором И. Я. Постовским.

И. Я. Постовский организацию промышленного производства новых препаратов в г. Свердловске рассматривал как «большое дело» об этом свидетельствует его письмо к директору УИИ А. С. Качко, в котором он просил освободить его от всех административных работ в институте и дать возможность сосредоточиться на решении этой сложной задачи [3] (см. Приложение).

К маю 1941 г. препарат сульфатиазол был проверен на 100 больных. Наблюдения и тщательные сравнительные исследования, продолженные во время войны, убедили, что препараты являются эффективным средством в лечении пневмоний и отличаются относительно малой токсичностью, что позволяло применять препарат даже без предварительных анализов крови и мочи, данное преимущество впоследствии особенно оказалось важно в условиях военно-полевой медицины.

Несмотря на быстрое развитие сульфамидной химии и терапии в г. Свердловске, создание производственной базы новых лекарственных препаратов происходило медленно. Ситуация начинает меняться только с началом Великой Отечественной войны.

Основные мощности химико-фармацевтической промышленности СССР находились в европейской части страны. Быстрое наступление войск противника потребовало немедленной эвакуации фармацевтических предприятий. В короткие сроки в тылу была создана восточная группа предприятий химико-фармацевтической промышленности. В частности в ноябре 1941 г. из московской области в г. Ирбит был эвакуирован химико-фармацевтический завод «Акрихин» и на его основе организован Ирбитский химико-фармацевтический завод № 38. Перед Свердловским фармзаводом № 8 была поставлена задача — освоить выпуск сульфамидных препаратов, таких как стрептоцид, сульфидин, норсульфазол.



Рис. 1. Исаак Яковлевич Постовский

Работы на фармзаводе по освоению выпуска новых лекарственных средств велись под руководством профессора И. Я. Постовского. Большая часть состава кафедры органической химии УИИ включилась в процесс получения сульфамидов в объёмах, необходимых для фронта и тыла. С первых дней войны на заводе трудились Борис Николаевич Лундин, Зоя Васильевна Пушкарёва, Рувим Григорьевич Бейлес, Наталья Павловна Беднягина, Анна Алексеевна Калистратова, Наталия Валерьяновна Серебрякова, Вера Ивановна Шишкина.

Методики по получению сульфамидных препаратов были уже Кафедрой разработаны и опробованы в лабораторных масштабах. Трудность заключалась в отсутствии необходимого оборудования при переходе к производству крупных партий препаратов. Работы велись в крайне трудных условиях.

Вспоминает профессор, д. х. н. Н. П. Беднягина: «...Я занята разработкой метода синтеза норсульфазола. Ещё нет ни цеха, ни аппаратуры, но вопреки всему мы проводим реакции в ведрах, тазах, нарушая технику безопасности, но производим сотни граммов и килограммы препарата за сутки. И тут же препарат идет в госпиталь. Задача ОТК проста — определить температуру плавления соединения. Вот мы ... хлорируем спирт прямо на заводском дворе. Хлорные баллоны тяжёлые и ржавые, мы с ними еле справляемся. Если свернем нарезку, то хлор отравит не только нас,

но и часть жилого квартала около завода... Затем сырой 2-аминотиазол надо кристаллизовать из бензола. Я наливаю в ведро 8 литров бензола, загружаю пасту и ставлю нагревать на водяную баню, но не выше 70 градусов — бензол опасен. Выношу ведро на заводской двор, и сливаю раствор смолы в другое ведро для охлаждения и кристаллизации... после этого остаются стадии синтеза более лёгкие, и наконец, перекристаллизация из воды драгоценного норсульфазола» [4]

Ситуация на химфармзаводе изменилась в лучшую сторону в конце 1941 г., когда из Москвы в г. Свердловск были эвакуированы сотрудники и оборудование ВНИХФИ. Инженерами и рабочими в тяжелейших условиях проведена установка и наладка оборудования, и в начале 1942 г. Свердловский завод приступил к промышленному выпуску сульфамидных препаратов.

Эвакуация из Москвы ведущего химико-фармацевтического института сыграло большую роль в быстром развитии фармакологической науки на Урале в условиях военного времени. В январе 1942 г. в г. Свердловске был организован Уральский филиал Всесоюзного научно-исследовательского химико-фармацевтического института им. С. Орджоникидзе (УФВНИХФИ).

На этапе его становления директором была к. х. н. Кетевана Архиповна Чхиквадзе, научным руководителем — профессор И. Я. Постовский. В исследовательский коллектив вошли эвакуированные из Москвы сотрудники центрального института, а также бывшие студенты и аспиранты кафедры органической химии УИИ (Н. П. Беднягина, М. А. Панюкова, Е. И. Абрамова, И. А. Козелло, Е. П. Кузнецова).

Исследования по сульфамидным препаратам, начатые во ВНИХФИ ещё до войны были продолжены в Уральском филиале по нескольким направлениям: по разработке методов получения стрептоцида из форманилида и сульфидина из формилсульфохлорида в водной среде с выходом 50%; по получению альбуцида из формилстрептоцида. Данные работы в результате показали возможность использования форманилида не только в качестве резервного сырья для сульфамидных препаратов в случае отсутствия ацетинида, но и как основное сырьё.

Продолжились исследования в области синтеза сульфатиазола, научной группой в составе И. Я. Постовского, В. И. Хмелевского и Н. П. Беднягиной. В ходе работ проверено в укрупнённом лабораторном масштабе получение 2-аминотиазола из этилацетата. В качестве сырья этилацетата использовались виниловые эфиры, которые стали подходящим сырьём для получения хлорпроизводных, пригодных для конденсации с тиомочевинной в 2-аминотиазол. В дальнейшем описанная методика получения 2-аминотиазола

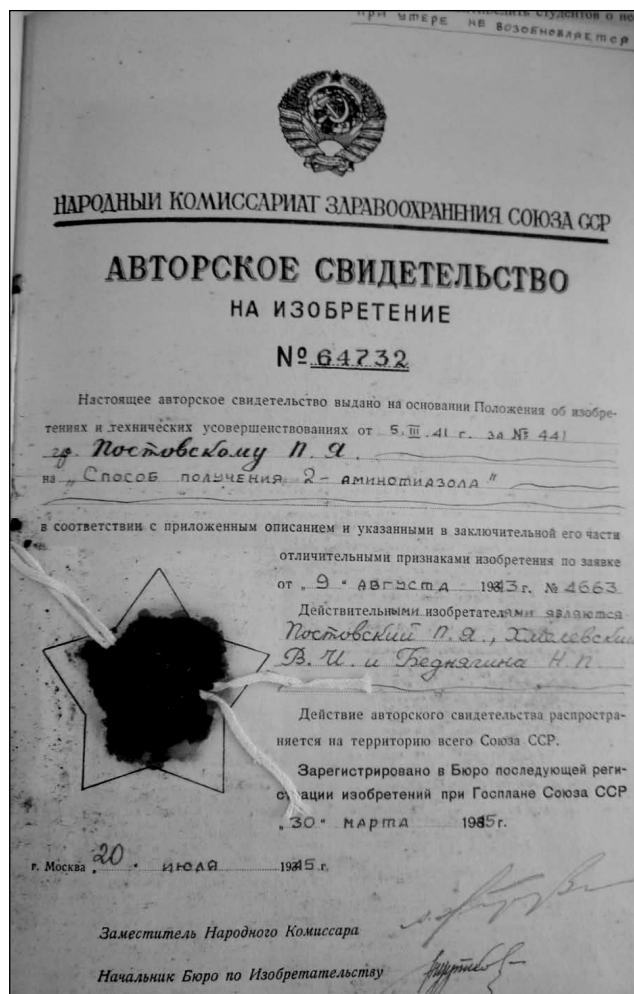


Рис. 2. Авторское свидетельство «Способ получения 2-аминотиазола» И. Я. Постовский, В. И. Хмелевский, Н. П. Беднягина, 1945 г.

из ацетата была доработана и получен простой и экономичный технологический процесс (рис. 2).

Препарат получил название норсульфазола, о чём И. Я. Постовский сожалел, и считал, что его следовало назвать сульфатиазол/норсульфазол, поскольку богатая иностранная литература по сульфатиазолу могла выпасть из поля зрения медиков, которые могли и не знать, что это один и тот же препарат.

Уральский филиал ВНИХФИ результативно работал, несмотря на многочисленные трудности военного времени, которые заключались в недостаточном снабжении посудой и химреактивами, нехватки рабочих площадей, отсутствии научной литературы. Но самая большая проблема заключалась в ограниченном количестве научных кадров, необходимых для проведения исследований в разных направлениях (синтез, анализ, фармакология и т. д.). Проблема особенно обострилась в 1943 г. после начала отъезда москвичей обратно в столицу. В Филиале осталось работать всего семнадцать сотрудников из двадцати восьми.

В годы войны сотрудниками филиала были разработаны и внедрены в производство методы получения норсульфазола, дисульфана, а также бентонитовых паст «БВ», «ВТ»³. Филиал оказывал помощь химико-фармацевтическим заводам Урала и Сибири по внедрению технологических процессов получения новых лекарственных средств.

Благодаря деятельности профессора И. Я. Постовского на Урале в годы войны в ограниченные сроки был создан центр по исследованию и синтезу сульфамидных препаратов, по их промышленному производству и заложена основа подготовки квалифицированных кадров для развивающейся химико-фармацевтической промышленности в г. Свердловске.

Уральские учёные одними из первых в мировой практике открыли «эру сульфамидных препаратов». Данный успех был бы невозможен без теснейшего сотрудничества химиков и медиков. Особая роль здесь принадлежит Борису Павловичу Кушелевскому, им было разработано лечение пневмонии и дизентерии новыми сульфаниламидными препаратами, которые впервые в СССР были внедрены в практику в свердловских госпиталях и больницах.

В Свердловской области одновременно могло находиться на лечении 60 тыс. чел. На Урал попадали самые тяжелораненные, требующие длительного специализированного лечения и восстановления. В сложных условиях Свердловску удалось сдержать все возможные эпидемии дизентерии, тиф, туберкулёз во многом благодаря использованию новых препаратов.

Кроме того, из доклада главного врача 2-й Советской больницы г. Нижнего Тагила Е. М. Нейнбурга на городской конференции медиков 1944 г. следует, что: «...лечение сульфидином стало применяться не только при воспалении лёгких... В хирургическом отделении засыпка сульфидина в брюшную полость при операциях желудочно-кишечного тракта резко снизила процент осложнений и смертности. В гинекологическом отделении его применение снизило сроки лечения и ...смертность при тяжчайших септических заболеваниях. Сульфидинотерапия в детском отделении дала прекрасные результаты при токсической диспепсии. Профилактическое применение сульфидина в палате новорождённых значительно снизило количество пневмоний в самом раннем возрасте» [5].

В 1946 г. профессор И. Я. Постовский стал лауреатом Сталинской премии за работы, проведённые в 1943—1944 г. по синтезу и организации промышленного производства сульфаниламидных препаратов.

В ноябре 1946 г. научное руководство Уральским филиалом ВНИХФИ переходит от профессора И. Я. Постовского к его ученику В. И. Хмелевскому. Основные задачи Филиала в послевоенный период заключались в изыскании лекарственных веществ канцеролитического действия, разработке противотуберкулёзных препаратов и изучении зависимости между структурой и химиотерапевтическим действием веществ.

За десять лет, прошедших с момента открытия антибактериального действия белого стрептоцида и его гетероциклического производного сульфацилидина, химиками разных стран было синтезировано более 5000 соединений, являющихся производными сульфаниламида общей формулы. Используя наработанный мировой научной практикой материал можно было переходить к теоретическим исследованиям по сульфамидам, к построению теории «активности сульфамидов».

Исследования по сульфамидам и сульфонам проводились совместно сотрудниками Уральского филиала ВНИХФИ и кафедрой органической химии УПИ З. В. Пушкарёвой, З. Ю. Кокошко и М. А. Белоус. Цель заключалась в получении точной физико-химической характеристики веществ сульфамидного типа, проведении измерений, расчётов и описаний дипольных моментов данных соединений.

Результаты работы были обобщены в докторской диссертации «Особенности молекулярной структуры сульфаниламидов и сульфонов» З. В. Пушкарёвой в 1947 г. Основная идея работы состояла в установлении взаимосвязи между «весом некоторых резонансных структур» и антибактериальной активностью на *E.coli*. Был проведён расчёт теоретической свободной энергии молекулы, определена теплота сгорания и вычислена энергия резонанса. Найдено простое уравнение, отражающее определённую количественную взаимосвязь структуры и активности исследуемых соединений.

Проблематика сульфамидных соединений сохранялась в научно-исследовательских работах УФВНИХФИ до 1980 годов. Сотрудниками Филиала продолжены исследования по развитию методов получения наиболее важных сульфамидных соединений. Был разработан оригинальный метод синтеза норсульфазола с одновременным получением в качестве побочного продукта белого стрептоцида. Разработанный метод в дальнейшем более 20 лет применялся в фармацевтической промышленности СССР, после чего был усовершенствован.

³ Бентонитовые пасты были разработаны в 1943 г. И. Я. Постовским и Ф. Е. Рабиновичем при использовании тонко размолотого бентонита с фармацевтическими препаратами и добавлением воды. Паста «БВ» предназначалась для лечения ран, «ВТ» — при ожогах. Пасты были рекомендованы к применению в госпиталях при лечении ран и ожогов профессором Аркадием Тимофеевичем Лидским, Главным хирургом эвакогоспиталей НКЗ РСФСР по Свердловской области.

Таким образом, следует подчеркнуть, что изучение данного периода истории химико-фармацевтической науки показывает, что советские и, в частности, уральские учёные сыграли большую роль в создании и совершенствовании сульфамидных препаратов. И. Я. Постовским и Л. Н. Голдыревым: впервые в мире был синтезирован сульфapiидин/сульфидин. Применение новых соединений в медицинской практике позволило не только облегчить течение болезней у огромного числа больных граждан нашей страны, но и спасти сотни тысяч жизней раненных в годы Великой Отечественной войны и вернуть в строй большое число солдат и офицеров. Широкое использование сульфамидных препаратов в мире в целом привело к улучшению качества жизни человечества и недаром в СССР газеты писали о начале «эры сульфамидных препаратов», а в Великобритании

сульфapiидин получил название «волшебного лекарства». Сульфаниламиды на протяжении десятилетий использовались врачами при лечении различных заболеваний. В описываемый период профессором И. Я. Постовским был заложен фундамент для дальнейшего успешного развития в Уральском регионе научной школы фармацевтической химии.

Благодарности. Авторы выражают благодарность за помощь в работе над статьей, за предоставленные материалы по истории кафедры органической и биомолекулярной химии УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина и Уральского филиала ВНИХФИ академику РАН Олегу Николаевичу Чупахину, д. фарм. н. Александру Юрьевичу Петрову, к. х. н. Татьяне Сергеевне Шестаковой, а также старшему преподавателю кафедры ИНТ УрФУ Борису Исааковичу Фарманову.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Документ публикуется впервые:

Письмо директору УИИ А. С. Качко
2 февраля 1941 г.

Проведённые на кафедре оргхимии работы по сульфамидным препаратам, как Вам известно, внедрены в небольшом масштабе в производство.

При Вашем содействии я имел возможность 2 раза беседовать с наркомом здравоохранения РСФСР т.Третьяковым. (Далее сноска со звездочкой, а внизу страницы — одна беседа состоялась на французском языке у наркома в гостинице).

Нарком, отметив наши скромные успехи, поставил перед мною и т. Лундиным задачу создать на фармзаводе крупное (подчёркнуто) производство сульфамидных препаратов.

Исключительное государственное значение вопроса нарком подчёркивал неоднократно и ставил перед нами требование (подчёркнуто) всецело отдаться на год заводской работе.

Я понимаю, что для меня наступил период жизни, когда мне надо полностью окунуться в большое дело. Если это делать между делом, совмещая с другими большими обязанностями, то, несомненно, поставленные наркомом задачи я не решу. (не — подчёркнуто).

В связи с приведённым я прошу Вас:

1. Освободить меня до лета от всех длительных заседаний и совещаний.
2. Разрешить мне до подыскания нового декана химфака, ограничить пребывание в деканате минимумом времени для только разрешения протокольных вопросов.
3. Освободить т. Лундина до 1.04. от любой нагрузки передав её В. И. Хмелевскому в связи с чем последнего разгрузить от другой нагрузки (в одинаковом объёме) и в связи с чем найти для Л. Н. Голдарева 1/2 ставки по совместительству.
4. Наметить для З. В. Пушкарёвой, по возможности скоро, замену, с тем, чтобы и ей включиться в работу завода.

Только при удовлетворении моей просьбы, мне будет возможно переключиться всем (основным) коллективом кафедры на выполнение срочного и важного задания.

Я не сомневаюсь, что Вы как всегда, внимательно подойдете к моему вопросу и с достаточным размахом и нужной деловитостью

Разрешите поставленные в моей просьбе вопросы.

Уважающий Вас И. Постовский.

Резолюция директора Качко— вынести на дирекцию 18 февраля 1941
Освободили его от должности по его просьбе только с 15 марта 1942 г

ГАСО Ф.3-227, оп. 4-Л. Д. 312. ЛЛ.60-62

ЛИТЕРАТУРА

1. *Lesch John E.* The First Miracle Drugs: How the Sulfa Drugs Transformed Medicine. New York: Oxford University Press, 2007; 364.
2. *Постовский И.Я., Кушелевский Б.П.* Химия сульфамидных препаратов и химиотерапия на Урале. Санитарная служба в дни Отечественной войны. — 1943. — № 2. — С. 11—17. / *Postovskij I.YA., Kushelevskij B.P.* Khimiya sul'famidnykh preparatov i khimioterapiya na Urale. Sanitarnaya sluzhba v dni Otechestvennoj vojny 1943; 2: 11—17. [in Russian]
3. Государственный архив Свердловской области. Ф.3-227, оп. 4-Л. Д. 312. ЛЛ.60-62. / Gosudarstvennyj arkhiv Sverdlovskoj oblasti. F.Z-227, op. 4-L. D. 312. LL.60-62. [in Russian]
4. Наталья Павловна Беднягина — Химия и Судьба. Уральское отделение Российской академии наук. Екатеринбург; 2000. — 432 с. / Nataliya Pavlovna Bednyagina — Khimiya i Sud'ba. Ural'skoe otделение Rossijskoj akademii nauk. Ekaterinburg; 2000; 432. [in Russian]
5. *Подкорытова Н.А.* Неизвестная победа: Медицина Свердловской области в годы войны. Екатеринбург; 2015. — 155 с. / *Podkorytova N.A.* Neizvestnaya pobeda: Meditsina Sverdlovskoj oblasti v gody vojny. Ekaterinburg; 2015; 155. [in Russian]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Запарий Владимир Васильевич — д. и. н., профессор, зав кафедрой истории науки и техники, Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина, Екатеринбург

Дерябина А. В. — к. и. н., научный сотрудник, ФГБУН Институт химии твердого тела Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург

Указатель авторов и статей, опубликованных в журнале в 2017 году

Абрамович Р.А. см. Прокопьев А.С. и др. 7—8 (48)
Алексеев С.И. см. Сиренко Н.В. и др. 1—2 (35)
Алферова В.А. см. Габриэлян Н.И. и др. 11—12 (7)
Альмяшева Н.Р., Ярина М.С., Голышкин А.В., Джавахян Б.Р., Краснополянская Л.М. Антиоксидантные свойства водорастворимых полисахаридов и этанольных экстрактов мицелия ксилотрофных базидиальных грибов 7—8 (8)
Алябьев Н.М. см. Чеботарь И.В. и др. 11—12 (29)
Архипов В.В. см. Соловьева А.П. и др. 5—6 (54)
Афанасьевская Е.В. см. Кузнецова М.В. и др. 11—12 (12)

Бабарина М.Б. см. Васильева Е.И. и др. 7—8 (24)
Балыкина Ю.Е. см. Сидоренко С.В. и др. 7—8 (17)
Баранова А.А. см. Фельдман Н.Б. и др. 9—10 (9)
Баркова А.О. см. Сереброва С.Ю. и др. 3—4 (37)
Бармин А.А. см. Саканян Е.И. и др. 5—6 (63)
Бердникова Н.Г. см. Журавлева М.В. и др. 9—10 (34)
Беседнова Н.Н. см. Смолина Т.П. и др. 7—8 (3)
Бойкова Ю.В. см. Ефременкова О.В. и др. 1—2 (16)
Бойкова Ю.В. см. Габриэлян Н.И. и др. 11—12 (7)
Боровская Т. Г., Машанова В. А. Экспериментальная оценка влияния препарата Кагоцел на репродуктивную функцию при его введении профилактическими курсами в течение периода полового созревания 3—4 (31)
Бородина И.А. см. Гулий О.И. и др. 3—4 (3)
Бочарова Ю.А. см. Чеботарь И.В. и др. 11—12 (29)
Булгакова В. Г., Орлова Т. И., Полин А. Н. Факторы, действующие на синтез клеточной стенки *Staphylococcus aureus*, и устойчивость к антиомитину D 1—2 (10)
Булгакова В.Г. см. Орлова Т.И. и др. 5—6 (68)
Бунятян Н.Д. см. Соловьева А.П. и др. 5—6 (54)
Быков Е. Е., Мирчинк Е. П., Исакова Е. Б., Бычкова Е. Н., Олсуфьева Е. Н., Тевяшова А. Н. Изучение антибактериальной активности и энергии связывания с пептидным лигандом гибридных антибиотиков ванкомицин—азитромицин и эритромицин—азитромицин 3—4 (10)
Бычкова Е.Н. см. Быков Е.Е. и др. 3—4 (10)
Бычкова О.П. см. Тренин А.С. и др. 1—2 (3)
Бычкова О.П. см. Лакатош С.А. и др. 5—6 (3)

Васильев В.Г. см. Прокопьев А.С. и др. 7—8 (48)
Васильева Б.Ф. см. Габриэлян Н.И. и др. 11—12 (7)
Васильева Е.И., Соколова В.И., Сычев Д.А., Бабарина М.Б. Видовой состав уропатогенов и диапазон чувствительности к антибиотикам основных возбудителей, выделенных из мочи больных с мочекаменной болезнью 7—8 (24)
Верещако Р.И. см. Самусева А.А. и др. 9—10 (47)
Веркина Л.М. см. Селянская Н.А. и др. 1—2 (20)
Виноградова К.А., Филиппова С.Н., [Полин А.Н.] Морфогенез, программируемая клеточная смерть и антибиотикобразование у стрептомицетов в условиях погруженного роста 7—8 (49)
Владимиров И.В. см. Хохлова О.Е. и др. 9—10 (27)
Волкова М.О. см. Сиренко Н.В. и др. 1—2 (35)

Воронцов Е.А. см. Никольская Е.Д. и др. 3—4 (18)
Воропаев А.А., Фадейкина О.В., Ермолаева Т.Н., Давыдов Д.С., Кудашева Э.Ю. Оценка возможности применения метода Култера (электрочувствительных зон) для определения невидимых механических включений в лекарственных препаратах крови человека отечественного производства 7—8 (36)

Габриэлян Н.И. см. Ефременкова О.В. и др. 1—2 (16)
Габриэлян Н.И., Драбкина И.В., Крупенин Т.В., Демьянкова М.В., Маланичева И.А., Васильева Б.Ф., Ефименко Т.А., Сумарукова И.Г., Глухова А.А., Бойкова Ю.В., Малкина Н.Д., Удалова В.В., Алферова В.А., Коришун В.А., Ефременкова О.В. Антимикотическая активность штамма *Bacillus subtilis* 534 — основы лекарственного препарата пробиотика споробактерина 11—12 (7)
Галстян Л.Р. см. Сереброва С.Ю. и др. 3—4 (37)
Глубокова Е.А. см. Фалынскова И.Н. и др. 11—12 (9)
Глухова А.А. см. Ефременкова О.В. и др. 1—2 (16)
Глухова А.А. см. Габриэлян Н.И. и др. 11—12 (7)
Голобродо В.А. см. Портной Ю.А. и др. 7—8 (13)
Головин С.Н. см. Селянская Н.А. и др. 1—2 (20)
Голышкин А.В. см. Альмяшева Н.Р. и др. 7—8 (8)
Городецкая Г.И. см. Сереброва С.Ю. и др. 1—2 (44)
Городецкая Г.И. см. Сереброва С.Ю. и др. 3—4 (37)
Горяинов С.В. см. Прокопьев А.С. и др. 7—8 (48)
Горюхов Д.В. см. Соловьева А.П. и др. 5—6 (54)
Гостев В.В. см. Хохлова О.Е. и др. 9—10 (27)
Грекова А.И. см. Жаркова Л.П. и др. 7—8 (30)
Громоных Т.И. см. Фельдман Н.Б. и др. 9—10 (9)
Гудкова О.И. см. Фельдман Н.Б. и др. 9—10 (9)
Гукасова Н.В. см. Никольская Е.Д. и др. 3—4 (18)
Гулий О. И., Зайцев Б. Д., Шихабудинов А. М., Бородина И. А., Ларионова О. С., Жничкова Е. Г. Определение чувствительности микробных клеток к полимиксину методом электроакустического анализа 3—4 (3)
Гунар О.В. см. Шаповалова О.В. и др. 7—8 (42)
Гущина Ю.Ш. см. Зырянов С.К. и др. 7—8 (69)

Давыдов Д.С. см. Воропаев А.А. и др. 7—8 (36)
Данилов А. И., Козлов Р. С., Козлов С. Н., Дехнич А. В. Практика ведения пациентов с инфекционным эндокардитом в Российской Федерации 1—2 (30)
Данильченко А.Р. см. Сидоренко С.В. и др. 7—8 (17)
Дворецкий Л.И., Суворова М.П., Яковлев С.В. Ятрогенные события при антибактериальной терапии (поражение лёгких) 7—8 (80)
Демьянкова М.В. см. Габриэлян Н.И. и др. 11—12 (7)
Дерябина А.В. см. Запарий В.В. 11—12 (39)
Дехнич А.В. см. Данилов А.И. и др. 1—2 (30)
Джавахян Б.Р. см. Альмяшева Н.Р. и др. 7—8 (8)
Джалилова Д.Ш. см. Фалынскова И.Н. и др. 11—12 (21)
Дмитриенко К.А. см. Попов А.Ф. и др. 1—2 (25)
Довженко С.А. см. Портной Ю.А. и др. 7—8 (13)
Долгих В.Т. см. Пянова Л.Г. и др. 3—4 (25)
Долгова Г.В. см. Шаповалова О.В. и др. 7—8 (42)
Драпкина И.В. см. Ефременкова О.В. и др. 1—2 (16)
Драпкина И.В. см. Габриэлян Н.И. и др. 11—12 (7)

Егизарян Л.А. см. Селянская Н.А. и др. 1—2 (20)
 Ералиева Л.Т. см. Рамазанова Б.А. и др. 5—6 (35)
 Еременко Н.Н. см. Сереброва С.Ю. и др. 1—2 (44)
 Еременко Н.Н. см. Сереброва С.Ю. и др. 3—4 (37)
 Ермолаева Т.Н. см. Воропаев А.А. и др. 7—8 (36)
 Ефименко Т.А. см. Ефременкова О.В. и др. 1—2 (16)
 Ефименко Т.А. см. Габриэлян Н.И. и др. 11—12 (7)
 Ефременкова О.В., Габриэлян Н.И., Маланичева И.А.,
 Ефименко Т.А., Сумарукова И.Г., Глухова А.А., Бой-
 кова Ю.В., Рогожин Е.А., Королев А.М., Коршун В.А.,
 Драбкина И.В. Антимикробные свойства амикума-
 цина 1—2 (16)
 Ефременкова О.А. см. Габриэлян Н.И. и др. 11—12 (7)

Жаркова Л.П., Смолянкин Н.Н., Грекова А.И., Козлов
 С.Н. Микробиологическое обоснование выбора
 антимикробных препаратов для терапии сальмо-
 nellлёза у детей 7—8 (30)
 Железняк Н.Г. см. Селянская Н.А. и др. 1—2 (20)
 Жукова О.В., Колышкина Т.М., Федосеев В.Б. Моде-
 лирование клинической эффективности лекарст-
 венных препаратов с использованием бета-распре-
 деления (на примере антибиотикотерапии острого
 обструктивного бронхита у детей 11—12 (43)
 Жничкова Е.Г. см. Гулий О.И. и др. 3—4 (3)
 Жунина О.А. см. Никольская Е.Д. и др. 3—4 (18)
 Журавлева М.В. см. Сереброва С.Ю. и др. 1—2 (44)
 Журавлева М.В. см. Сереброва С.Ю. и др. 3—4 (37)
 Журавлева М.В., Яровой С.К., Прокофьев А.Б.,
 Бердникова Н.Г., Пономаренко Т.М., Родионов Б.А.,
 Каменева Т.Р., Лазарева Н.Б., Сереброва С.Ю., Су-
 хобрус И.В. Актуальные вопросы эмпирической
 антимикробной терапии инфекции мочевыводя-
 щих путей со стратификацией пациентов по риску
 антибиотикорезистентности 9—10 (34)

Завриев С.К. см. Рогожин Е.А. и др. 9—10 (3)
 Зайцев Б.Д. см. Гулий О.И. и др. 3—4 (3)
 Зайцев С.А. см. Саканян Е.И. и др. 5—6 (63)
 Запарий В.В., Дерябина А.В. Участие уральских учё-
 ных в разработке антибиотиков в 1930—1940 годах
 11—12 (39)
 Запорожец Т.С. см. Смолина Т.П. и др. 7—8 (3)
 Зарубаев В.В. см. Лаврентьева И.Н. и др. 5—6 (12)
 Зотов А.С. см. Самусева А.А. и др. 9—10 (47)
 Зырянов С.К., Сычев И.Н., Гущина Ю.Ш. Современ-
 ные проблемы инфекций вызванных MRSA и пути
 их решения 7—8 (69)

Ивао Я. см. Хохлова О.Е. и др. 9—10 (27)
 Ивлев В.А. см. Прокопьев А.С. и др. 7—8 (48)
 Ипполитова А.А. см. Мазина Н.К. и др. 5—6 (43)
 Исакова Е.Б. см. Тренин А.С. и др. 1—2 (3)
 Исакова Е.Б. см. Быков Е.Е. и др. 3—4 (10)

Казаков Р.Е. см. Сереброва С.Ю. и др. 3—4 (37)
 Калабин Г.А. см. Прокопьев А.С. и др. 7—8 (48)
 Каменева О.А., Морозова С.Е., Пунченко О.Е., Кося-
 кова К.Г., Сидоренко С.В. Этиологическая структу-
 ра и антибиотикорезистентность возбудителей

внебольничных инфекций мочевыводящих путей в
 Санкт-Петербурге, 2013—2015 гг. 9—10 (19)
 Каменева Т.Р. см. Журавлева М.В. и др. 9—10 (34)
 Капшук Д.Н. см. Хохлова О.Е. и др. 9—10 (27)
 Карасева О.В. см. Чеботарь И.В. и др. 11—12 (29)
 Карташова Н.П. см. Фалынскова И.Н. и др. 11—12 (21)
 Кисиль О.В. см. Рогожин Е.А. и др. 9—10 (3)
 Климко Н.Н. см. Сидоренко С.В. и др. 7—8 (17)
 Клясова Г.А. см. Коробова А.Г. и др. 5—6 (26)
 Кобрин М.Б. см. Портной Ю.А. и др. 7—8 (13)
 Коваленко А.Л. см. Мазина Н.К. и др. 5—6 (43)
 Козлов Р.С. см. Данилов А.И. и др. 1—2 (30)
 Козлов С.Н. см. Данилов А.И. и др. 1—2 (30)
 Козлов С.Н. см. Жаркова Л.П. и др. 7—8 (30)
 Колбин А.С. см. Сидоренко С.В. и др. 7—8 (17)
 Коленчукова О.А., Сарматова Н.И., Мошев А.В.
 Фагоцитарная активность нейтрофильных грану-
 лоцитов в ответ на воздействие β -лактамаз расши-
 ренного спектра (*Staphylococcus aureus*; *Klebsiella*
pneumoniae; *Pseudomonas aeruginosa*) 9—10 (15)
 Колоскова Е.А. см. Рамазанова Б.А. и др. 5—6 (35)
 Колышкина Т.М. см. Жукова О.В. и др. 11—12 (39)
 Копытко Л.Н. см. Хохлова О.Е. и др. 9—10 (27)
 Коробова А.Г., Хрульнова С.А., Охмат В.А., Клясова Г.А.
 Молекулярно-генетическое типирование энтеро-
 бактерий с продукцией БЛРС, выделенных от
 больных гемобластомами 5—6 (26)
 Королев А.М. см. Ефременкова О.В. и др. 1—2 (16)
 Коршун В.А. см. Ефременкова О.В. и др. 1—2 (16)
 Коршун В.А. см. Габриэлян Н.И. и др. 11—12 (7)
 Косякова К.Г. см. Каменева О.А. и др. 9—10 (19)
 Краснополская Л.М. см. Альмяшева Н.Р. и др. 7—8 (8)
 Красноухов А.И. см. Шаталова Е.В. и др. 11—12 (35)
 Крупенин Т.В. см. Габриэлян Н.И. и др. 11—12 (7)
 Крыжановская О.А. см. Чеботарь И.В. и др. 11—12 (29)
 Крылов В.И. см. Кузьмина Н.Е.
 Кудашева Э.Ю. см. Воропаев А.А. и др. 7—8 (36)
 Кузнецова К.Ю. кызы см. Кузнецова Ю.К. и др.
 3—4 (53)
 Кузнецова М.В., Паршаков А.А., Афанасьевская Е.В.,
 Самарцев В.А. Ингибирование адгезии бактерий
Staphylococcus на сетчатых имплантатах в комбина-
 ции с биоцидами (*in vitro*) 11—12 (12)
 Кузнецова Ю.К., Сергеев В.П., Кузнецова К.Ю. кызы
 Исторические аспекты лечения кожного лейшма-
 ниаза 3—4 (53)
 Кузьмина Н.Е., Моисеев С.В., Крылов В.И., Якир В.А., Мер-
 кулов В.А. Разработка методики подтверждения под-
 ллинности фармацевтической субстанции «бусерелина
 ацетат» методом ЯМР спектроскопии без использова-
 ния фармакопейного стандартного образца 9—10 (40)
 Кузьм А.М. см. Сидоренко С.В. и др. 7—8 (17)
 Куликова Н.Г., Терехова Л.П. Индукция антибиоти-
 кообразования при глубинном культивировании
 штаммов редких родов актиномицетов 11—12 (3)
 Кургузова Д.О. см. Сереброва С.Ю. и др. 1—2 (44)
 Кургузова Д.О. см. Сереброва С.Ю. и др. 3—4 (37)
 Курыков В.Н. см. Фельдман Н.Б. и др. 9—10 (9)

Лавренов С.Н. см. Тренин А.С. и др. 1—2 (3)
 Лавренов С.Н. см. Лакатош С.А. и др. 5—6 (3)
 Лаврентьева И.Н., Сухобаевская Л.П., Зарубаев В.В.
 Противовирусная активность экстракта ладанника

шалфеелистного (*Cistus salviifolius*) в отношении вируса гриппа 5—6 (12)

Лазарева А.В. см. Чеботарь И.В. и др. 11—12 (29)
Лазарева Н.Б. см. Сереброва С.Ю. и др. 3—4 (37)
Лазарева Н.Б. см. Журавлева М.В. и др. 9—10 (34)
Лакатош С.А. см. Тренин А.С. и др. 1—2 (3)
Лакатош С.А., Тренин А.С., Симонов А.Ю., Лавренов С.Н., Бычкова О.П., Цвигун Е.А. Новые биологически активные соединения в ряду производных 3-(индол-1-ил)-, 3-(N-аминоарил)- и 3-(S-тиоарил)малеимида 5—6 (3)
Ларионова О.С. см. Гулий О.И. и др. 3—4 (3)
Ленёва И.А. см. Фалынскова И.Н. и др. 11—12 (21)
Лихолобов В.А. см. Пьянова Л.Г. и др. 3—4 (25)
Лобзин Ю.В. см. Сидоренко С.В. и др. 7—8 (17)
Луценко С.В. см. Фельдман Н.Б. и др. 9—10 (9)
Любота Р.В. см. Самусева А.А. и др. 9—10 (47)

Мазин П.В. см. Мазина Н.К. и др. 5—6 (43)
Мазина Н.К., Мазин П.В., Ипполитова А.А., Коваленко А.Л. Оценка клинической эффективности циклоферона при гепатите В и С у детей и взрослых по результатам систематического обзора и мета-анализа 5—6 (43)

Мазуров В.А. см. Сидоренко С.В. и др. 7—8 (17)
Макарова О.В. см. Фалынскова И.Н. и др. 11—12 (21)
Маланичева И.А. см. Ефременкова О.В. и др. 1—2 (16)
Маланичева И.А. см. Габриэлян Н.И. и др. 11—12 (7)
Маликов А.Я. см. Сидоренко С.В. и др. 7—8 (17)
Малкина Н.Д. см. Габриэлян Н.И. и др. 11—12 (7)
Махмудова Н.Р. см. Фалынскова И.Н. и др. 11—12 (21)
Машанова В.А. см. Боровская Т.Г. 3—4 (31)
Мацкевич В.А. см. Хохлова О.Е. и др. 9—10 (27)
Маянский Н.А. см. Чеботарь И.В. и др. 11—12 (29)
Меркулов В.А. см. Кузьмина Н.Е. и др. 9—10 (40)
Мирчинк Е.П. см. Тренин А.С. 1—2 (3)
Мирчинк Е.П. см. Быков Е.Е. и др. 3—4 (10)
Митрошин А.Н. см. Суслов А.В. и др. 5—6 (21)
Моисеев С.В. см. Кузьмина Н.Е. и др. 9—10 (40)
Моисеева И.Я. см. Суслов А.В. и др. 5—6 (21)
Морозова С.Е. см. Каменева О.А. и др. 9—10 (19)
Мосикян А.А. см. Сидоренко С.В. и др. 7—8 (17)
Мошев А.В. см. Коленчукова О.А. и др. 7—8 (15)
Муштафина К.К. см. Рамазанова Б.А. и др. 5—6 (35)
Мхитаров В.А. см. Фалынскова И.Н. и др. 11—12 (21)

Неугодова Н.П. см. Шаповалова О.В. и др. 7—8 (42)
Никольская Е.Д., Жунина О.А., Сокол М.Б., Фомичева М.В., Гукасова Н.В., Воронцов Е.А., Яббаров Н.Г., Терещенко О.Г., Северин Е.С. Антибактериальная активность полимерной формы джозамицина 3—4 (18)

Олсуфьева Е.Н. см. Быков Е.Е. и др. 3—4 (10)
Орлова Т.И. см. Булгакова В.Г. и др. 1—2 (10)
Орлова Т.И., Булгакова В.Г., [Полин А.Н.] Вторичные метаболиты морских микроорганизмов. III. Морские грибы — источник биологически активных продуктов 5—6 (68)
Охмат В.А. см. Коробова А.Г. и др. 5—6 (26)

Памяти А.Н.Полина 3—4 (67)
Парахина О.В. см. Шаталова Е.В. и др. 11—12 (35)
Паршаков А.А. см. Кузнецова М.В. и др. 11—12 (12)
Перьянова О.В. см. Хохлова О.Е. и др. 9—10 (27)
Поликарпова С.В. см. Чеботарь И.В. и др. 11—12 (29)
Полин А.Н. см. Булгакова В.Г. и др. 1—2 (10)
[Полин А.Н.] см. Орлова Т.И. и др. 5—6 (68)
[Полин А.Н.] см. Виноградова К.А. и др. 7—8 (56)
Пономаренко Т.М. см. Журавлева М.В. и др. 9—10 (34)
Попов А.Ф., Симакова А.И., Дмитренко К.А., Щелканов М.Ю. Повышение противогриппозной эффективности Осельтамивира (Тамифлю®) и Умифеновира (Арбидола®) путём сочетанного применения с Кагоцелом® 1—2 (25)
Портной Ю.А., Довженко С.А., Кобрин М.Б., Трещалин М.И., Голобродо В.А., Тевяшова А.Н., Фирсов А.А. Фармакокинетика оливамида при внутривенном введении крысам и кроликам (пилотное исследование) 7—8 (13)
Потиевский Э.Г. см. Селянская Н.А. и др. 1—2 (20)
Поткина Н.К. см. Хохлова О.Е. и др. 9—10 (27)
Прокопьев А.С., Ивлев В.А., Васильев В.Г., Горяинов С.В., Абрамович Р.А., Калабин Г.А. Новая методология быстрого мониторинга аутентичности и определения содержания фармацевтических субстанций в антибиотиках без использования стандартных образцов 7—8 (48)
Прокофьев А.Б. см. Сереброва С.Ю. и др. 1—2 (44)
Прокофьев А.Б. см. Сереброва С.Ю. и др. 3—4 (37)
Прокофьев А.Б. см. Журавлева М.В. и др. 9—10 (34)
Пунченко О.Е. см. Каменева О.А. и др. 9—10 (19)
Пьянова Л.Г., Долгих В.Т., Лихолобов В.А., Рудаков Н.В., Чеснокова М.Г., Седанова А.В. Антибактериальные и антимикотические свойства гранулированных углеродных сорбентов, модифицированных олигомерами молочной кислоты 3—4 (25)

Рамазанова Б.А., Ералиева Л.Т., Муштафина К.К., Колоскова Е.А. Мультицентровое исследование распространённости назофарингеального носительства *Streptococcus pneumoniae* на отдельных территориях Республики Казахстан до и после начала противопневмококковой вакцинации 5—6 (35)
Репина А.В. см. Сидоренко С.В. и др. 7—8 (17)
Решетняков О.В. см. Хрянин А.А. 1—2 (40)
Решетников О.В. см. Хрянин А.А. 3—4 (46)
Рогожин Е.А. см. Ефременкова О.В. и др. 1—2 (16)
Рогожин Е.А., Кисиль О.В., Черетаев И.В., Завриев С.К. Характеристика белково-пептидного экстракта семян мари белой (*Chenopodium album* L.): изучение компонентного состава, антимикробных и анальгетических свойств 9—10 (3)
Родионов Б.А. см. Журавлева М.В. и др. 9—10 (34)
Рудаков Н.В. см. Пьянова Л.Г. и др. 3—4 (25)

Савинова Т.А. см. Чеботарь И.В. и др. 11—12 (29)
Садыкова В.С. см. Фельдман Н.Б. и др. 9—10 (9)
Саканян Е.И., Шемерянкина Т.Б., Бармин А.В., Зайцев С.А., Ярушок Т.А. Фармацевтические субстанции. Требования Государственной фармакопеи к их стандартизации 5—6 (63)

Самарцев В.А. см. Кузнецова М.В. и др. 11—12 (12)
 Самусева А.А., Люботы Р.В., Зотов А.С., Верещако Р.И. Клиническое значение экспрессии топоизомеразы 2 α при раке молочной железы 9—10 (47)
 Сарматова Н.И. см. Коленчукова О.А. и др. 7—8 (15)
 Северин Е.С. см. Никольская Е.Д. и др. 3—4 (18)
 Седанова А.В. см. Пьянова Л.Г. и др. 3—4 (25)
 Селянская Н.А., Егиазарян Л.А., Головин С.Н., Потиевский Э.Г., Веркина Л.М., Железняк Н.Г. Активность пектина в отношении биоплёнок холерных вибрионов 1—2 (20)
 Семёнова Е.Ф. см. Суслов А.В. и др. 5—6 (21)
 Сергеев В.П. см. Кузнецова Ю.К. и др. 3—4 (53)
 Сереброва С.Ю., Прокофьев А.Б., Журавлева М.В., Городецкая Г.Н., Еременко Н.Н., Смолярчук Е.А., Кургузова Д.О. Эрадикация *H. pylori*: оценка риска и возможности профилактики межлекарственных взаимодействий 1—2 (44)
 Сереброва С.Ю., Прокофьев А.Б., Журавлева М.В., Казаков Р.Е., Сичинава И.В., Городецкая Г.И., Еременко Н.Н., Лазарева Н.Б., Галстян Л.Р., Смолярчук Е.А., Кургузова Д.О., Барков А.О. Фармакогенетика и воспалительные заболевания кишечника у взрослых и детей: перспективы диагностики и лечения 3—4 (37)
 Сереброва С.Ю. см. Журавлева М.В. и др. 9—10 (34)
 Сидоренко С.В., Колбин А.С., Шляпников С.А., Кушель А.М., Репина А.В., Лобзин Ю.В., Климко Н.Н., Яблонский П.К., Мазуров В.А., Щеголев А.В., Рудакова А.В., Данильченко А.Р., Мухина Н.В., Маликов А.Я., Балькина Ю.Е., Мосикян А.А. Фармакоэпидемиологическое исследование использования антибактериальных средств в многопрофильных стационарах Санкт-Петербурга 7—8 (17)
 Сидоренко С.В. см. Каменева О.А. и др. 9—10 (19)
 Сидоренко С.В. см. Хохлова О.Е. и др. 9—10 (27)
 Симакова А.И. см. Попов А.Ф. и др. 1—2 (25)
 Симонов А.Ю. см. Тренин А.С. 1—2 (3)
 Симонов А.Ю. см. Лакатош С.А. и др. 5—6 (3)
 Сиренко Н.В., Алексеенко С.И., Цурикова Г.П., Волкова М.О. Паратонзиллярные абсцессы у детей. Клинико-микробиологические методы исследования 1—2 (35)
 Сичинава И.В. см. Сереброва С.Ю. и др. 3—4 (37)
 Смолина Т.П., Запорожец Т.С., Беседнова Н.Н. Активация клеток врождённого иммунитета человека липополисахаридом и экстрацеллюлярным полисахаридом морских бактерий 7—8 (3)
 Смолянкин Н.Н. см. Жаркова Л.П. и др. 7—8 (30)
 Смолярчук Е.А. см. Сереброва С.Ю. и др. 1—2 (44)
 Смолярчук Е.А. см. Сереброва С.Ю. и др. 3—4 (37)
 Сокол М.Б. см. Никольская Е.Д. и др. 3—4 (18)
 Соколова В.И. см. Васильева Е.И. и др. 7—8 (24)
 Соловьева А.П., Горячев Д.В., Архипов В.В., Буянтия Н.Д. Базисные подходы к оценке эффективности лечения синдрома спастичности у детей с детским церебральным параличом препаратами ботулинического токсина типа А 5—6 (54)
 Суворова М.П. см. Дворецкий Л.И. и др. 7—8 (80)
 Сумарокова И.Г. см. Ефременкова О.В. и др. 1—2 (16)
 Сумарокова И.Г. см. Габриэлян Н.И. и др. 11—12 (7)
 Сулов А.В., Семёнова Е.Ф., Митрошин А.Н., Моисеева И.Я. Влияние цефтриаксона на состав пристеночной и полостной микрофлоры тонкого кишечника крыс линии Вистар 5—6 (21)

Сухобаевская Л.П. см. Лаврентьева И.Н. и др. 5—6 (12)
 Сухобрус И.В. см. Журавлева М.В. и др. 9—10 (34)
 Сычев Д.А. см. Васильева Е.И. и др. 7—8 (24)
 Сычев Д.А. см. Зырянов С.К. и др. 7—8 (69)

Тевяшева А.Н. см. Быков Е.Е. и др. 3—4 (10)
 Тевяшева А.Н. см. Портной Ю.А. и др. 7—8 (13)
 Терехова Л.П. см. Куликова Н.Г. 11—12 (3)
 Терещенко О.Г. см. Никольская Е.Д. и др. 3—4 (18)
 Тренин А.С., Лавренов С.Н., Мирчинк Е.П., Исакова Е.Б., Бычкова О.П., Симонов А.Ю., Лакатош С.А., Цвигун Е.А. Разработка препаратов на основе трис(1-алкилиндол-3-ил)метана с целью преодоления лекарственной устойчивости возбудителей 1—2 (3)
 Тренин А.С. см. Лакатош С.А. и др. 5—6 (3)
 Трещалин М.И. см. Портной Ю.А. и др. 7—8 (13)

Удалова В.В. см. Габриэлян Н.И. и др. 11—12 (7)

Фадейкина О.В. см. Воропаев А.А. и др. 7—8 (36)
 Фалынскова И.Н., Ленёва И.А., Макарова О.В., Махмудова Н.Р., Глубокова Е.А., Карташова Н.П., Мхитаров В.А., Джалилова Д.Ш. Оценка эффективности комбинации риамиловира и осельтамивира на модели экспериментальной гриппозной инфекции мышей 11—12 (21)
 Фёдоров см. Жукова О.В. и др. 11—12 (39)
 Фельдман Н.Б., Гудкова О.И., Курьяков В.Н., Громыных Т.И., Баранова А.А., Садыкова В.С., Луценко С.В. Биологическая активность липосомного силибина 9—10 (9)
 Филиппова С.Н. см. Виноградова К.С. и др. 7—8 (56)
 Фирсов А.А. см. Портной Ю.А. и др. 7—8 (13)
 Фомичева М.В. см. Никольская Е.Д. и др. 3—4 (18)

Хохлова О.Е., Перьянова О.В., Владимиров И.В., Мацкевич В.А., Поткина Н.К., Капшук Д.Н., Копытко Л.Н., Гостев В.В., Сидоренко С.В., Ивао Я., Ямамото Т. Микробиологический мониторинг гнойных осложнений у ожоговых больных и молекулярно-генетические особенности метициллинорезистентных *Staphylococcus aureus* (MRSA) 9—10 (27)
 Хрульнова С.А. см. Коробова А.Г. и др. 5—6 (26)
 Хрянин А.А., Решетников О.В. Перспективы клинического применения офлоксацина в гинекологии и урологии 1—2 (40)
 Хрянин А.А., Решетников О.В. Иммунологические нарушения при урогенитальной хламидийной инфекции и методы их коррекции 3—4 (46)

Цвигун Е.А. см. Тренин А.С. и др. 1—2 (3)
 Цвигун Е.А. см. Лакатош С.А. и др. 5—6 (3)

Чеботарь И.В., Крыжановская О.А., Алябьев Н.М., Савинова Т.А., Бочарова Ю.А., Лазарева А.В., Поликарпова С.В., Карасева О.В., Маянский Н.А. Генотипы и носительство генов β -лактамаз у карбапенеморезистентных штаммов *Acinetobacter baumannii*, выделенных в г. Москве 11—12 (29)

Чеснокова М.Г. см. Пьянова Л.Г. и др. 3—4 (25)
Чертаев И.В. см. Рогожин Е.А. и др. 9—10 (3)

Цурикова Г.П. см. Сиренко Н.В. и др. 1—2 (35)

Шадрин П.В. см. Шаповалова О.В. и др. 7—8 (42)
Шаповалова О.В., Шадрин П.В., Неугодова Н.П., Гунар О.В., Долгова Г.В. Валидационные процедуры для определения показателя «Бактериальные эндотоксины» 7—8 (42)

Шаталова Е.В., Парахина О.В., Красноухов А.И. Значимость микробиологического мониторинга в современной системе профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи 11—12 (35)

Шемерянкина Т.Б. см. Саканян Е.И. и др. 5—6 (63)

Шихабудинов А.М. см. Гулий О.И. и др. 3—4 (3)
Шляпников С.А. см. Сидоренко С.В. и др. 7—8 (17)

Щеголев А.В. см. Сидоренко С.В. и др. 7—8 (17)
Щелканов М.Ю. см. Попов А.Ф. и др. 1—2 (25)

Яббаров Н.Г. см. Никольская Е.Д. и др. 3—4 (18)
Яблонский П.К. см. Сидоренко С.В. и др. 7—8 (17)
Краснопольская Л.М. см. Дворецкий Л.И. и др. 7—8 (80)
Ямамото Т. см. Хохлова О.Е. и др. 9—10 (27)
Ярина М.С. см. Альмяшева Н.Р. и др. 7—8 (8)
Яровой С.К. см. Журавлева М.В. и др. 9—10 (34)
Ярушок Т.А. см. Саканян Е.И. и др. 5—6 (63)
Яшкир В.А. см. Кузьмина Н.Е. и др. 9—10 (40)

П Р А В И Л А Д Л Я А В Т О Р О В

Редакция обращает внимание авторов на следующие правила и форму представления рукописей для публикации в журнале «Антибиотики и химиотерапия».

1. Рукописи статей в **2 экз.** (вместе с электронной версией текста на диске) с приложением в 2 экз. иллюстраций (в отдельном конверте) направляются по адресу: **113105 Москва, ул. Нагатинская, д. 3а. Редакция журнала «Антибиотики и химиотерапия».** Рукопись должна иметь сопроводительное письмо, подписанное руководителем учреждения, в котором выполнена работа. Статья подписывается всеми авторами с указанием ответственного за переписку (Ф.И.О., адрес, телефон).

2. В выходных данных статьи указываются: название, инициалы, фамилии авторов, наименование учреждений, всех авторов, их должности, e-mail.

3. Статья печатается на одной стороне стандартного листа **через 1,5–2 интервала при ширине полей слева 3 см.**

4. Объём оригинальной статьи (как правило) не должен превышать 12 страниц, включая таблицы и иллюстрации, общее количество иллюстраций — не более 5. Объём обзорной статьи не должен превышать 20 страниц, а список цитируемой литературы — не более 60 названий. Объём заказанных статей устанавливается по договоренности.

5. Оригинальная статья должна включать (по порядку) следующие основные разделы: «**Резюме**» — не более 1 страницы; введение с кратким обзором литературы и постановкой цели исследования; «**Материал и методы**» — с детальным описанием объектов исследований, методических приёмов и квалификаций использованных реагентов (фирм-изготовителей); «**Результаты исследований**» и «**Обсуждение результатов**» или «**Результаты и обсуждение**», «**Заключение**» или «**Выводы**» (по пунктам); «**Литература**» — с указанием цитируемых источников.

6. Таблицы должны быть пронумерованы, **иметь название**, заголовки граф точно соответствовать их содержанию, а цифры в таблицах — цифрам в тексте. Необщепринятые сокращения в графах не допускаются. На каждую таблицу в тексте статьи должны быть **сноски**.

7. Иллюстрации (графики, диаграммы, формулы) должны быть чёткими, фотографии — контрастными. На обороте каждого рисунка указывается фамилия первого автора статьи, номер рисунка, обозначается верх рисунка. В тексте статьи обязательны ссылки на рисунок. Рисунки и таблицы не должны дублировать друг друга. **Подписи к рисункам делаются на отдельном листе** с указанием номера рисунка и его названия. Для графиков и диаграмм отмечается, **что дано по осям координат** на приведенных кривых и т. п.

8. В **формулах** должны быть чётко **размечены все элементы**: строчные (м) и прописные (М) буквы, синим подчеркнуты латинские буквы, красным — греческие (с вынесением разметки на поля), четко выделяются подстрочные и надстрочные индексы; в случае цифр и букв, сходных по написанию (0 — цифра, О — буква), должны быть сделаны соответствующие пометки.

9. **Сокращения слов, названий** (кроме общепринятых сокращений мер физических, химических, а также математических величин и терминов) **не допускаются**. Меры даются по Международной системе единиц (**СИ**) в русском обозначении, температура по шкале Цельсия.

10. Латинские названия микроорганизмов приводятся в соответствии с современной классификацией. При первом упоминании название микроорганизма дается полностью — род и вид (например, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptomyces lividans*), при повторном упоминании **родовое название сокращается** до одной буквы (*E.coli*, *S.aureus*, *S.lividans*).

11. Названия генетических элементов даются в трёхбуквенном обозначении латинского алфавита строчными буквами, курсивом (*tet*), кодиру-

емыми соответствующими генетическими элементами продукты — прописными прямыми буквами (ТЕТ).

12. В журнале используются **международные непатентованные названия** (МНН) препаратов. Торговые (патентованные) названия, под которыми препараты выпускаются различными фирмами, приводятся в разделе «Материал и методы», с указанием фирмы-изготовителя и их международным непатентованным названием.

13. Цитируемые источники литературы во всех видах публикаций нумеруются в порядке их упоминания в тексте и заключаются в квадратные скобки. В библиографическом описании указываются фамилия, инициалы автора, название ста-

ти, журнала, год, том, номер журнала, номера страниц «от» и «до»; в случае монографии — фамилия и инициалы автора (редактора), название, город, год, количество страниц.

14. Статьи, ранее опубликованные или направленные в какой-либо другой журнал или сборник, не должны присылаться.

15. При несоблюдении указанных правил статьи редакцией не принимаются.

16. Статьи, принятые в журнал, проходят рецензирование. Редакция и издательство не несут ответственности за мнения, изложенные в публикациях, а также за содержание рекламы.

17. Рукописи отклонённых работ редакция не возвращает.

Противовирусный препарат

МНН Риамиловир

ТРИАЗАВИРИН®

*Грипп теперь
не страшен с ним!*



ТРИАЗАВИРИН - оригинальный препарат группы азолазинов. Препарат этиотропного действия с широким спектром противовирусной активности.

ТРИАЗАВИРИН рекомендован Министерством здравоохранения РФ в качестве препарата с прямым противовирусным действием при лечении гриппа в амбулаторных и стационарных условиях*.

* Клинические рекомендации Минздрава РФ Грипп у взрослых, 2017 год
Регистрационное удостоверение № ЛП-002604 от 28.08.2014 г.

(343) 270-75-71, 270-75-00
www.triazavirin.ru
Info@triazavirin.ru



ЗАВОД МЕДСИНТЕЗ