

Чувствительность и формирование устойчивости к антисептикам и дезинфектантам у возбудителей внутрибольничных инфекций

И.А.Дятлов, Е.В.Детушева, И.П.Мицевич, К.В.Детушев, Я.В.Подкопаев, Н.К.Фурсова

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

Работа посвящена изучению чувствительности клинически значимых микроорганизмов, выделенных в 2015–2016 гг. в отделениях реанимации и интенсивной терапии, а также при расследовании вспышек внутрибольничных инфекций, к препаратам антисептиков и дезинфектантов. Разработан методический подход для сравнительного анализа чувствительности микроорганизмов в планктонном состоянии и для биопленок. Показано, что биопленки современных клинических штаммов микроорганизмов значительно более устойчивы к антибактериальным препаратам по сравнению с планктонными клетками. Для клинических штаммов микроорганизмов характерна способность формировать устойчивость к антибактериальным препаратам в условиях селективного давления субингибирующих концентраций. На примере антисептиков разных функциональных классов – хлоргексидина и цетилпиридиния хлорида – изучена динамика формирования резистентных клонов к ним у актуальных госпитальных патогенов *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* и *S. aureus*. Изучение проблемы возникновения устойчивости к антибактериальным препаратам у возбудителей инфекций человека является весьма актуальным и важным научным направлением, необходимым для совершенствования контроля внутрибольничных инфекций в Российской Федерации.

Ключевые слова: антисептики, дезинфектанты, бактериальная устойчивость, внутрибольничные инфекции, планктонные бактерии, биопленки

Для цитирования: Дятлов И.А., Детушева Е.В., Мицевич И.П., Детушев К.В., Подкопаев Я.В., Фурсова Н.К. Чувствительность и формирование устойчивости к антисептикам и дезинфектантам у возбудителей внутрибольничных инфекций. Бактериология. 2017; 2(2): 48–58. DOI: 10.20953/2500-1027-2017-2-48-58

Sensitivity and formation of stability to antiseptics and disinfectants in hospital infections

I.A.Dyatlov, E.V.Detusheva, I.P.Mitsevich, K.V.Detushev, Ya.V.Podkopaev, N.K.Fursova

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russian Federation

The work is devoted to the study of the sensitivity of clinically significant microorganisms, isolated in 2015–2016 in intensive care hospital units, as well as in the investigation of outbreaks of nosocomial infections, to antiseptics and disinfectants. A methodological approach has been developed for a comparative analysis of the sensitivity of microorganisms in the plankton state and for biofilms. It is shown that biofilms of modern clinical strains are much more resistant to antibacterial drugs, in comparison with plankton cells. The ability to form resistance to antibacterial drugs in conditions of selective pressure of subinhibitory concentrations is characteristic for clinical strains of microorganisms. The dynamics of the formation of resistant clones to antiseptics of different functional classes – chlorhexidine and cetylpyridinium chloride in the actual hospital pathogens *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* and *S. aureus* was studied. The problem of the emergence of resistance to antibacterial drugs in infectious agents of human infections is a very relevant and important scientific direction necessary to improve the control of nosocomial infections in the Russian Federation.

Keywords: antiseptics; disinfectants; bacterial resistance; intrahospital infections; planktonic bacteria; biofilms.

For citation: Dyatlov I.A., Detusheva E.V., Mitsevich I.P., Detushev K.V., Podkopaev Ya.V., Fursova N.K. Sensitivity and formation of stability to antiseptics and disinfectants in hospital infections. Bacteriology. 2017; 2(2): 48–58. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2017-2-48-58

Для корреспонденции:

Фурсова Надежда Константиновна, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 36-0003
E-mail: fursova@obolensk.org

Статья поступила 10.05.2017 г., принята к печати 30.06.2017 г.

For correspondence:

Nadezhda K. Fursova, Cand. Sci. (Biol.), Head of Antimicrobial Agents Lab., Molecular Microbiology Dep., FBIS State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare

Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0003
E-mail: fursova@obolensk.org

The article was received 10.05.2017, accepted for publication 30.06.2017

Одним из критериев качества оказания медицинской помощи является показатель заболеваемости внутрибольничными инфекциями (инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи, ИСМП). ИСМП представляют серьезную проблему для общественного здравоохранения для всех стран, оказывают отрицательное влияние на показатели заболеваемости, смертности и степени тяжести состояния пациентов лечебных учреждений, стоимости и продолжительности лечения, а также представляют опасность для медицинских работников [1]. В России ИСМП ежегодно регистрируются у 35 тыс. пациентов, однако, согласно экспертным оценкам, реальная заболеваемость госпитальными инфекциями может составлять до 2,5 млн человек в год, что связано с несовершенством выявления и регистрации случаев ИСМП. Если тенденция нарастания числа внутрибольничных инфекций сохранится, то к 2050 г. данный показатель может возрасти до 10 млн человек в год [2]. Особую настороженность у клиницистов и руководителей здравоохранения вызывает тот факт, что в Российской Федерации 33,0% всех случаев ИСМП регистрируется в родовспомогательных учреждениях, в том числе 16,8% – в отделениях реанимации и интенсивной терапии новорожденных и недоношенных детей [3, 4]. В этиологической структуре ИСМП новорожденных наблюдается неуклонный рост доли стафилококков [5]. При этом изменяется соотношение клинической значимости антибиотикорезистентных и чувствительных стафилококков: возрастает число инфекций, вызванных коагулазонегативными стафилококками, доля которых составляет 30% от общего числа возбудителей [6, 7]. Кроме того, отмечается также нарастание роли грамотрицательных бактерий (*Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus spp.*), доля которых в структуре ИСМП родовспомогательных учреждений составляет около 25% [8–11]. Отмечается также увеличение значимости инфекций, обусловленных дрожжеподобными грибами рода *Candida*, что ассоциировано с длительностью госпитализации [12].

Усугубляющим проблему ИСМП фактором является то, что более 90% всех внутрибольничных инфекций имеют бактериальное происхождение, возбудители которых отличаются множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), а также устойчивостью ко многим антисептикам и дезинфицирующим средствам [13]. Вторым усугубляющим фактором, по оценке Национального института здоровья США, является факт, что 80% всех бактериальных инфекций человека, в том числе ИСМП, связаны со способностью возбудителей формировать биопленки, в составе которых бактерии имеют значительно более высокую устойчивость к антимикробным препаратам, по сравнению с планктонными клетками [6]. Поэтому важное значение приобретают методы определения чувствительности патогенов к используемым препаратам антибиотиков, антисептиков и дезинфектантов, позволяющие оценить чувствительность патогенов в разных физиологических состояниях для обеспечения эффективности антибактериальных мероприятий [11, 14].

В настоящее время широко обсуждаются вопросы формирования резистентности госпитальных штаммов к антибиотикам. При этом, по мнению некоторых авторов, имеется корреляционная зависимость между устойчивостью возбу-

дителей данных штаммов к дезинфицирующим средствам и антибиотикам, что является одной из важных причин широкого распространения и циркуляции данных штаммов, ведущих к ухудшению эпидемиологической ситуации и росту заболеваемости ИСМП [9, 15]. Отсутствие микробиологического мониторинга приводит к поздней диагностике инфекций, неадекватной антимикробной терапии, недооценке эпидемиологической ситуации в отделении [16, 17]. По данным, представленным в «Национальной Концепции РФ по профилактике инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи», разработанной в 2011 г., наблюдаемые в последние годы в России случаи регистрации и внедрения в практику здравоохранения неэффективных антисептических и дезинфекционных средств связаны с нарушениями в экспертной оценке новых средств, и подчеркивается необходимость создания новых методов определения чувствительности госпитальных патогенов к антимикробным препаратам, в том числе антисептикам и дезинфектантам [18].

Данное исследование посвящено сравнительному изучению чувствительности к антибиотикам, антисептикам и дезинфектантам у возбудителей внутрибольничных инфекций в планктонном состоянии и в форме бактериальных биопленок с помощью оригинального разработанного авторами метода, а также выяснению молекулярно-генетических механизмов формирования устойчивости бактерий к антибактериальным препаратам, на примере устойчивости к триклозану у *Staphylococcus aureus*.

Материалы и методы

Штаммы микроорганизмов. В работе использованы штаммы микроорганизмов: референс-штаммы бактерий *Klebsiella pneumoniae* ($n = 2$), *Escherichia coli* ($n = 1$), *Staphylococcus aureus* ($n = 1$) и *Pseudomonas aeruginosa* ($n = 2$), *Streptococcus pyogenes* ($n = 1$), *Streptococcus agalactiae* ($n = 1$), *Haemophilus influenzae* ($n = 1$), *Moraxella catarrhalis* ($n = 1$), *Staphylococcus epidermidis* ($n = 1$), *Staphylococcus saprophyticus* ($n = 1$), *Candida albicans* ($n = 1$), *Proteus vulgaris* ($n = 1$) (получены из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболенск»); клинические штаммы *K. pneumoniae* ($n = 8$), *P. aeruginosa* ($n = 4$), *Acinetobacter baumannii* ($n = 4$) и *Proteus mirabilis* ($n = 3$) (выделены от пациентов отделения нейрореанимации г. Москвы в 2013 г.); клинические штаммы *Elizabethkingia meningoseptica* ($n = 1$), *A. baumannii* ($n = 4$), *S. aureus* ($n = 2$), *Staphylococcus warneri* ($n = 1$), *S. epidermidis* ($n = 1$), *Streptococcus haemolyticus* ($n = 2$), *Streptococcus hominis* ($n = 1$), *Stenotrophomonas maltophilia* ($n = 1$) (выделены от пациентов детской реанимации Орловской области в 2016 г.); *Streptococcus pyogenes* ($n = 1$), *M. catarrhalis* ($n = 1$), *S. aureus* ($n = 1$), *C. albicans* ($n = 1$), *P. aeruginosa* ($n = 2$), *K. pneumoniae* ($n = 1$), *P. mirabilis* ($n = 1$), *Micrococcus luteus* ($n = 1$), *Acinetobacter pittii* ($n = 1$) выделены из клинических образцов при расследовании случаев инфекций по заданию Роспотребнадзора в 2016–2017 гг.

Идентификация микроорганизмов. Для видовой идентификации микроорганизмов использовали API системы (bioMérieux, Франция), приборы Vitek 2 Compact (bioMérieux, Франция) и MALDI-TOF Biotyper (Bruker, Германия).

Культивирование микроорганизмов. Для культивирования микроорганизмов использовали агар и бульон Мюллера-Хинтона (Himedia, Индия), агар и бульон ГРМ (Оболенск, Россия), и среду ГБМ (Оболенск, Россия) [19]. Культивирование планктонных форм микроорганизмов проводили в течение 20–24 ч при температуре 37°C. Культивирование биопленок микроорганизмов проводили в течение 168 ч при температуре 37°C.

Препараты биоцидов. В работе использовали препараты антисептиков «Триклозан» (Sigma-Aldrich Chemie, Германия), «Дезин» – 20%-ный хлоргексидин (ООО «Дезиндустрия», Россия), «Мирамистин» (ООО «Инфамед», Москва), «Бензалкония хлорид» (ООО «Химаналит», Россия), Цетилпиридиния хлорид (ООО «Химаналит», Россия) и дезинфектантов «Део-хлор» (ООО «Део», Россия), «Централь» (ООО «Бозон», Россия), «Тотус» (ООО «Авансепт Медикал», Россия), «Мистраль форте» (ООО «Авансепт Медикал», Россия), «Мистраль» (ООО «Авансепт Медикал», Россия), «Главкислород» (ООО «Авансепт Медикал», Россия), «Тори ОКСИ» ООО «Торимед», Россия), «БебиДез ультра» (ООО «Лизоформ-СПб», Россия).

Чувствительность планктонных культур к препаратам биоцидов планктонных культур (минимальные подавляющие концентрации, МПК и минимальные бактерицидные концентрации, МБК) определяли методом серийных разведений в бульоне, а также нанося микрокапли (10 мкл бактериальной суспензии в концентрации 10^7 – 10^8 КОЕ/мл) тестируемых культур на поверхность питательного агара, содержащего серийные разведения биоцида. За МПК принимали наименьшую концентрацию биоцида при которой отмечался бактериальный рост в бульоне или на агаре через 24 ч культивирования, а за МБК – через 72 ч культивирования [20].

Чувствительность бактериальных биопленок к препаратам антисептиков и дезинфектантов (МБК) определяли методом аппликаторов, нанося аппликатор с отпечатком бактериального газона, моделирующего состояние биопленки на поверхность питательного агара, содержащего серийные разведения биоцида, в ориентации «вниз бактериальным отпечатком». За МБК принимали минимальную концентрацию биоцида, на которой отсутствовал рост культуры [20].

Селекция культур, устойчивых к препаратам антисептиков. Селекцию устойчивых к антисептикам вариантов микроорганизмов осуществляли путем последовательных пересевов бактериальной культуры в питательном бульоне, содержащем ступенчато повышающиеся концентрации антисептика, в течение 2–8 нед, в зависимости от вида микроорганизма. Стабильность наследования приобретенной устойчивости к антибактериальному препарату у полученных вариантов определяли с помощью культивирования на питательной среде, не содержащей селективного агента, в течение 6–20 мес.

Определение параметров роста (бактериального фитнеса) штаммов осуществляли используя следующие показатели G_T (мин) – время одной генерации, K_D (мм/ч) – скорость линейного роста диаметра колоний, t_{1mm} , (ч) – времени достижения колониями диаметра 1 мм. Измерения проводили по «Упрощенной модели роста диаметра колоний одноклеточных микроорганизмов» [21] с помощью микроскопа ЛОМО МИКМЕД Д-2 (ЛОМО, ОАО СПб, Россия).

Выделение бактериальной ДНК осуществляли СТАВ-методом [22]. Количество полученной ДНК определяли спек-

трофотометрически на приборе UV-1700 (Zhimadzu, Япония) при длине волны 260 нм.

Полимеразная цепная реакция. Для амплификации фрагмента гена *fabI* *S. aureus* использовали специфичные олигонуклеотидные праймеры: *fabI* f 5'-ggcscacaagaacgt-3' и *fabI* R 5'-gtccaccaactgggtgac-3' [23]. Амплификацию проводили в термоциклере DNA Engine Dyad (Bio-Rad, США) при следующем режиме: начальная денатурация при 95°C – 4 мин, затем 25 циклов, включающих денатурацию при 95°C – 30 с, отжиг – 30 с и элонгацию при температуре 72°C – 80 с, в реакционной смеси, содержащей буфер для ПЦР с 15 мМ MgCl₂ (Termo Fisher Scientific, Европа), по 200 мкМ dATP, dCTP, dGTP и dUTP, 10 пмоль каждого праймера, 2,5 ед *Taq*-полимеразы и 10 нг ДНК. Наличие ПЦР-продукта детектировали с помощью электрофореза в 1% агарозном геле (Amersham Biosciences, Великобритания) с последующей визуализацией ДНК окраской 10% бромистым этидием. Очистку ПЦР-продуктов осуществляли с помощью набора реактивов «Dyenaic ETDye Terminator CycleS equencing» (Amersham Biosciences, Великобритания), согласно инструкции фирмы-изготовителя. Амплифицированный фрагмент гена секвенировали, используя протокол для автоматического секвенатора MegaBase 750 (Amersham Biosciences, Великобритания).

Полногеномное секвенирование осуществляли в системе Ion Torrent PGM (Life Technologies, США). Геномные библиотеки готовили с помощью набора реагентов Ion Plus Fragment Library Kit (Life Technologies, США). Секвенирование ДНК осуществляли с использованием генетического анализатора IonTorrentPGM, набора реагентов Ion PGM 400 Sequencing Kit и чипа для секвенирования Ion 318™ Chip Kit (Life Technologies, США).

Биоинформационный анализ секвенированных последовательностей ДНК осуществляли с помощью программ Vector NTI9 (Invitrogen, США), CHROMAS (Technelysium Pty Ltd, Австралия) и веб-ресурса BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Полученные в результате полногеномного секвенирования данные собирали с помощью ассемблера Newbler 2.9, биоинформационный анализ осуществляли с помощью программ Vector NTI10 (Invitrogen, США), Mauve (<http://darlinglab.org/mauve/mauve.html>), LaserGene 11 (DNASTAR, США) и веб-ресурса BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Штаммы бактерий, депонированные в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболенск»: *S. aureus* Tr1 (B-7890), *S. aureus* Tr2 (B-7891), *S. aureus* Tr1C (B-7921) и *S. aureus* Tr2C (B-7922).

Нуклеотидные последовательности ДНК, размещенные в международной базе данных GenBank: KP100446.1 и KP100447.1

Результаты и обсуждение

Оценка чувствительности планктонных клеток и биопленок госпитальных штаммов бактерий к антисептикам и дезсредствам

В ходе исследования разработан трехэтапный метод сравнения чувствительности планктонных культур и бактериальных биопленок к антисептикам, включающий в себя: (1) предварительную оценку диапазонов минимальных по-

давяющих концентраций и минимальных бактерицидных концентраций методом микроразведений в бульоне; (2) определение МПК и МБК методом микрокапли и (3) определение МБК аппликативным методом.

Использование данного подхода для сравнительного анализа чувствительности к антибактериальным препаратам

планктонных клеток микроорганизмов и биопленок позволило выявить различия в чувствительности для грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также дрожжеподобных грибов (рис. 1).

Чувствительность микроорганизмов к антисептикам и дезинфектантам изучали на препаратах, относящихся к разным

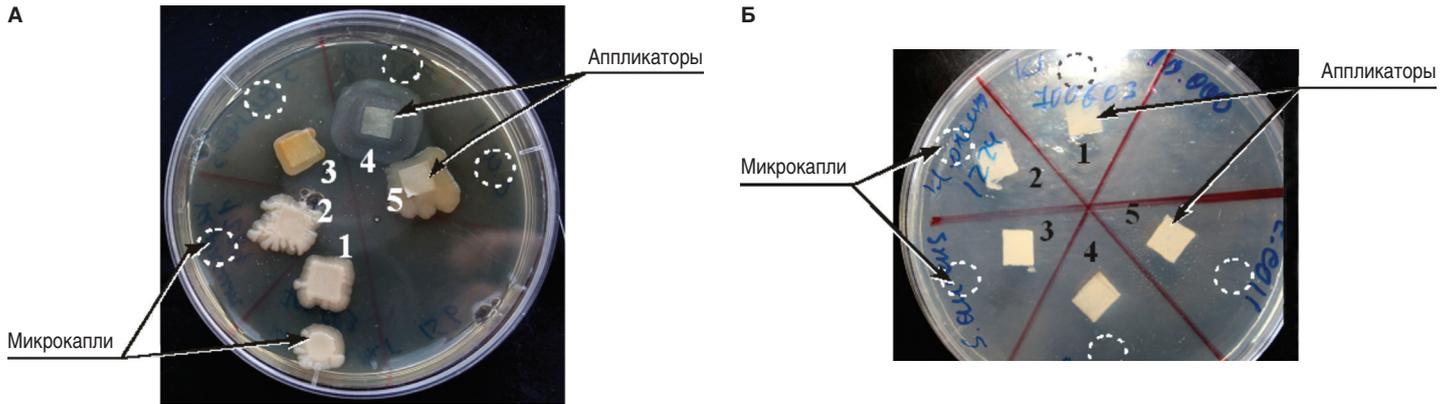


Рис. 1. Характер роста культур бактерий на питательной среде Муллера–Хинтона, содержащей хлоргексидин в концентрациях 0,02% (А) и 1,0% (Б). 1 – *K. pneumoniae* ATCC 700603, 2 – *K. pneumoniae* 1224, 3 – *S. aureus* 906, 4 – *P. aeruginosa* ATCC 27853, 5 – *E. coli* ATCC 25922.

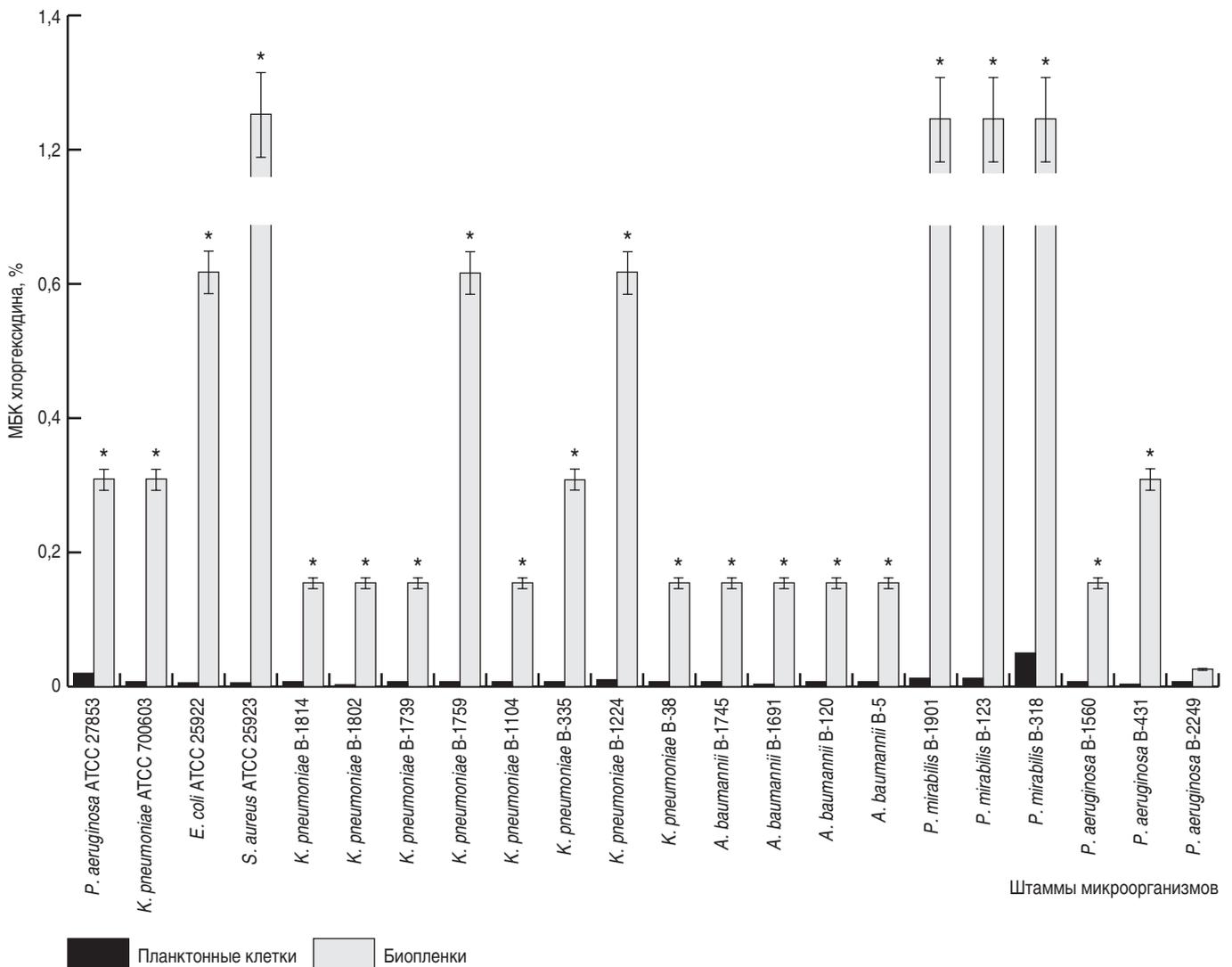


Рис. 2. Чувствительность бактерий к антисептику хлоргексидину в планктонном состоянии и в виде биопленок. Звездочкой отмечены значения МБК, превышающие рекомендованную производителем концентрацию.

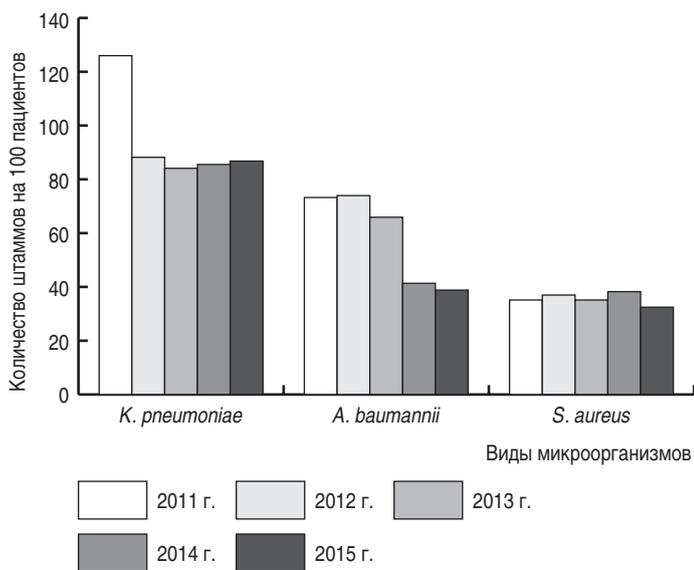


Рис. 3. Распространенность основных патогенов на 100 пациентов в отделении нейрореанимации г. Москвы [24].

функциональным классам: фенолы (хлоргексидин), четвертичные аммониевые соединения (ЧАС) (цетилпиридиния хлорид, мирамистин и бензалкония хлорид), амины («Мистраль»), хлорсодержащие («Део-хлор»), комбинированные дезсредства на основе кислородсодержащих соединений («Главкислород», «Тори ОКСИ» и «Беби Дез ультра»), комбинированные на основе ЧАС, альдегидов, гуанидина и аминов («Централь», «Тотус» и «Мистраль форте»).

Чувствительность бактерий к антисептику хлоргексидину изучали на коллекции референс-штаммов ($n = 4$), а также клинических изолятов ($n = 18$), выделенных в отделении нейрореанимации г. Москвы, отличающихся высокими уровнями устойчивости к антибактериальным препаратам, применяемым в клинической практике. Показано, что планктонные клетки нозокомиальных патогенов существенно чувствительнее к хлоргексидину, чем бактериальные клетки тех же штаммов в составе биопленки, что, по-видимому, связано с влиянием факторов, характерных для бактериальных биопленок (рис. 2).

Было установлено, что концентрация хлоргексидина, рекомендованная в инструкции по применению для ис-

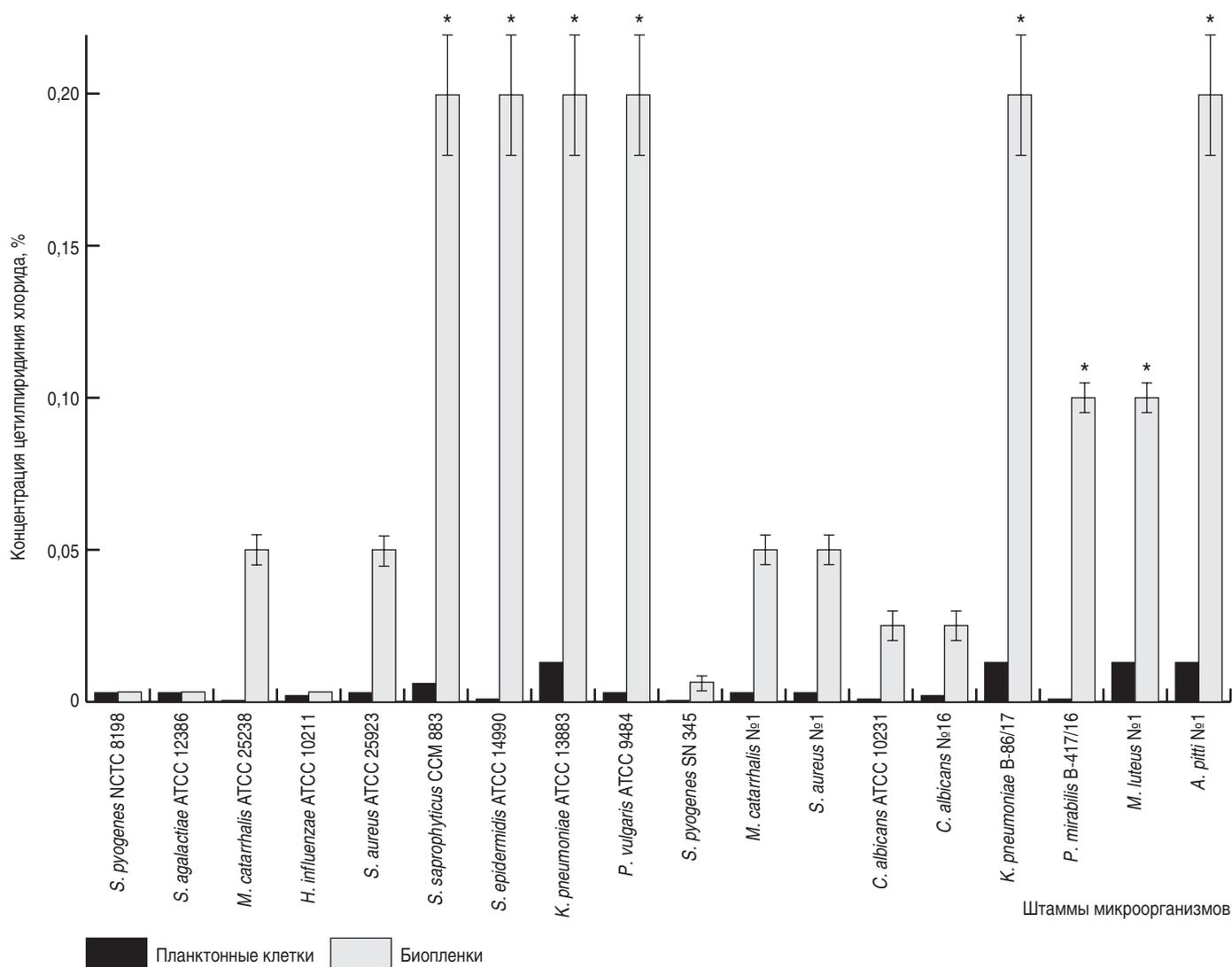


Рис. 4. Чувствительность микроорганизмов к антисептику цетилпиридиния хлориду в планктонном состоянии и в виде биопленок. Звездочкой отмечены значения МБК, превышающие концентрацию антисептика, применяемую в ополаскивателях для рта – 0,05%.

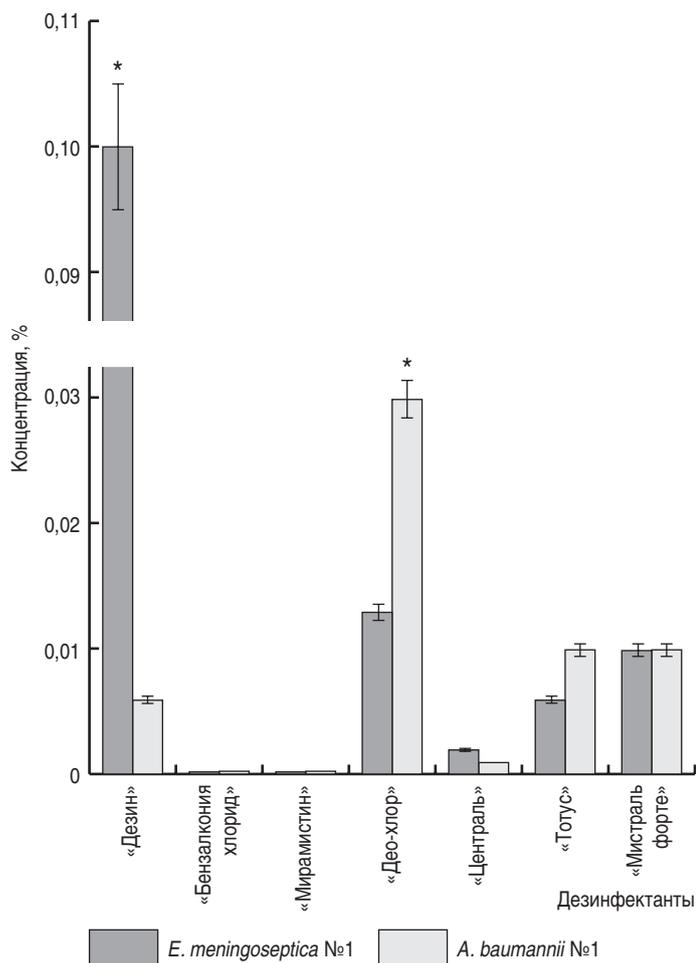


Рис. 5. Чувствительность планктонных клеток штаммов *E. meningoseptica* №1 и *A. baumannii* №1 к антисептикам и дезинфектантам разных функциональных классов. Звездочкой отмечены значения МБК, превышающие концентрации, применяемые в клинической практике.

пользования в качестве антисептика для обработки рук (0,5%), недостаточна для инактивации современных штаммов госпитальных патогенов. Нами предложено использование более высокой концентрации – 1,5% [20]. Применение хлоргексидина в концентрации 1,5% в программе ухода за пациентами отделения нейрореанимации г. Москвы позволило уменьшить интенсивность циркуляции патогенов – возбудителей нозокомиальных инфекций и снизить уровень заболеваемости инфекциями дыхательной системы пациентов, находящихся на искусственной вентиляции легких (рис. 3).

Чувствительность микроорганизмов к антисептику цетилпиридиния хлориду изучали на коллекции штаммов возбудителей инфекций верхних дыхательных путей, включающей референс-штаммы ($n = 10$) из международных коллекций и современные клинические штаммы, выделенные из клинических образцов при расследовании случаев инфекций по заданию Роспотребнадзора в 2016–2017 гг. ($n = 10$). Показано, что клетки всех использованных штаммов микроорганизмов, кроме двух штаммов *P. aeruginosa*, в планктонном состоянии чувствительны к антисептику цетилпиридиния хлориду в концентрации 0,05%, в то время, как в состоянии биопленки бактерии видов *P. aeruginosa*, *S. saprophyticus*, *S. epidermidis*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *M. luteus* и *A. pittii* были устойчивы к данному антисептику в концентрациях 0,1–6,3% (рис. 4).

Чувствительность к антисептикам и дезсредствам разных функциональных классов, в том числе комбинированным препаратам, изучали на коллекции штаммов выделенных от пациентов детской реанимации Орловской области в 2016 г. ($n = 12$). Данные штаммы являются возбудителями серьезных инфекций у новорожденных и недоношенных детей, которые закончились летально.

Показано, что даже в планктонном состоянии клетки штамма *E. meningoseptica* №1 были устойчивы к антисепти-

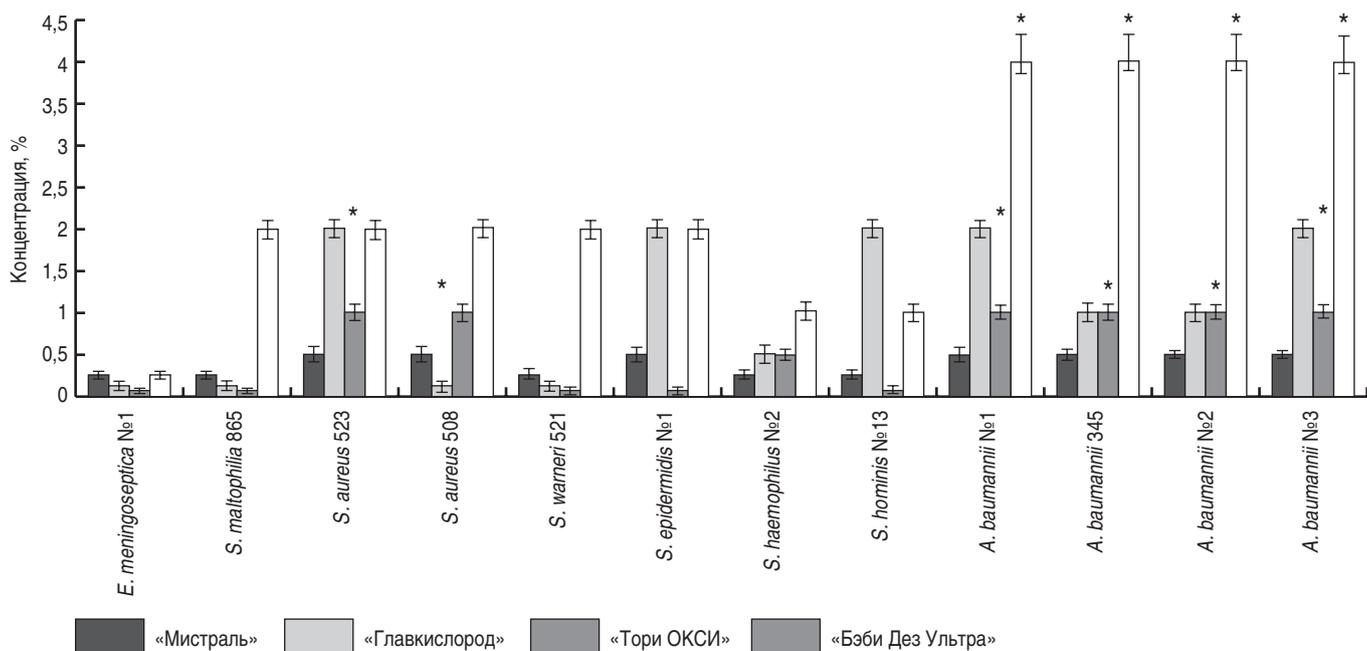


Рис. 6. Чувствительность биопленок штаммов бактерий, выделенных от пациентов реанимации новорожденных Орловской области в 2016 г. Звездочкой отмечены значения МБК, превышающие концентрации, применяемые в клинической практике.

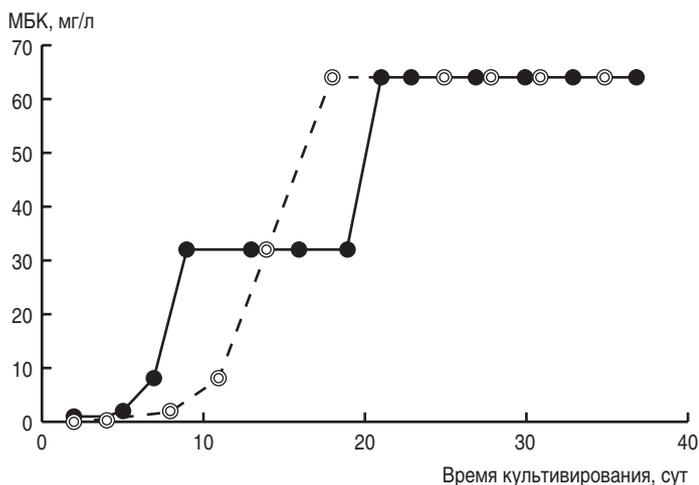


Рис. 7. Формирование устойчивости штамма *S. aureus* ATCC25923 к триклозану в жидкой питательной среде.

ку хлоргексидину, а клетки штамма *A. baumannii* №1 – к дезинфектанту «Део-хлор» в рабочих концентрациях (рис. 5).

Для биопленки клинических штаммов, выделенных в реанимации новорожденных Орловской области ($n = 12$), выявлена разная степень чувствительности препаратам дезинфектантов: к препаратам «Мистраль» и «Главкислород» все штаммы были чувствительны, а к кислородсодержащим препаратам «Тори ОКСИ» и «Беби Дез ультра» штаммы стафилококков и ацинетобактеров были нечувствительны (рис. 6).

Изучение закономерностей формирования устойчивости к антисептикам

а) Формирование устойчивости к триклозану у *S. aureus*

Формирование устойчивости к антисептикам у микроорганизмов изучали на примере триклозана (функциональный класс фенолов) и цетилпиридиния хлорида (функциональный класс четвертичных аммониевых соединений). Селекцию устойчивых к антисептикам вариантов бактерий видов *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* осуществляли путем последовательных пересевов культуры в питательном бульоне, содержащем ступенчато повышающиеся

концентрации антисептика в течение 20–60 дней.

Анализ динамики формирования устойчивости к триклозану штамма *S. aureus* ATCC25923 в двух независимых экспериментах показал, что формирование двух триклозан-устойчивых штаммов отличалось – у штамма *S. aureus* Tr1 устойчивость возникла в интервале между 2-м и 8-м пассажами, а у штамма *S. aureus* Tr2 – между 3-м и 6-м пассажами (рис. 7).

Показано, что приобретенная устойчивость к триклозану стабильно наследовалась у обоих штаммов: при пересевах на плотной питательной среде, не содержащей триклозана, в течение 26 месяцев штаммы *S. aureus* Tr1 и Tr2 сохраняли устойчивость к триклозану на прежнем уровне (МПК = 64 мг/л). Полученные в результате культивирования без селективного давления триклозана штаммы обозначены *S. aureus* Tr1C и Tr2C.

Параметры роста резистентных к триклозану вариантов штамма *S. aureus* ATCC25923 –Tr1, Tr1C, Tr2 и Tr2C, по сравнению с исходным штаммом *S. aureus* ATCC25923, были не одинаковы: триклозан-устойчивые штаммы линии Tr1 отличались несколько замедленным ростом – у них было увеличено время одной генерации G_T (34 ± 1 мин по сравнению с 29 ± 2 мин у исходного штамма) и время достижения колониями диаметра 1 мм t_{1mm} (23 ± 2 ч по сравнению с 15 ± 2 ч), а триклозан-устойчивые штаммы линии Tr2 имели скорость роста, сопоставимую с исходным штаммом.

Анализ геномов триклозан-устойчивых штаммов *S. aureus* с помощью классической ПЦР и полногеномного секвенирования выявил наличие точечной нуклеотидной замены C284T в гене *fabI*, описанной ранее в научной литературе и ассоциированной с триклозан-устойчивостью у стафилококков [25]. Кроме того, в штамме *S. aureus* Tr1 дополнительно выявлены две неописанные ранее в научной литературе мутации: (1) мутация G491A в гене гипотетического транспортного белка «HlyC/CorC family transporter», которая приводит к аминокислотной замене аргинина на гистидин R164H; (2) мутация C137T в гене белка-антипортера «Na⁺/H⁺ antiporter subunit F», связанного с устойчивостью к высоким концентрациям ионов Na⁺, K⁺, Li⁺ и щелочам, приводящая к аминокислотной замене метионина на изолейцин M46I. В штамме *S. aureus* Tr2, помимо мутации C284T, идентифи-

	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. aureus</i> Tr1	<i>S. aureus</i> Tr1C	Аминокислотная замена		<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. aureus</i> Tr2	<i>S. aureus</i> Tr2C	Аминокислотная замена	
Позиция	Нуклеотид	Нуклеотид	Нуклеотид			Позиция	Нуклеотид	Нуклеотид	Нуклеотид	
692033	A	A	A			949792	A	A	A	мембранный
718642	G	A	A	R 164 H	«гипотетический» транспортный белок	950082	C	T	T	A 95 V
872262	C	T	T	M 46 I		965576	C	C	C	гистидинкиназа
901066	A	A	A		белок-антипортер, связанный с устойчивостью к высоким концентрациям Na ⁺ , K ⁺ , Li ⁺ и щелочам	1716398	T	T	T	
949792	A	A	G			1862440	A	G	G	I 82 V
950082	C	T	T	A 95 V		2062764	G	G	G	<i>fabI</i>
965576	C	T	C		2063041	G	T	T	E 286	
						2320517	C	C	C	

Рис. 8. Нуклеотидные и аминокислотные замены, выявленные в триклозан-устойчивых штаммах, по сравнению с исходным штаммом *S. aureus* ATCC25923.

цированы еще две неописанные ранее мутации: (1) мутация A545G в гене мембранного гипотетического белка, приводящая к аминокислотной замене изолейцина на валин – I82V и (2) мутация G857T в гене АТФ-связывающего белка «АТФ-binding protein», которая приводит к образованию стоп-кодона вместо триплета, кодирующего глутаминовую кислоту – E86I. Интересно, что мутация C284T в гене еноил-ацил-редуктазы, а также описанные дополнительные мутации в генах гипотетического транспортного белка (G491A), белка-антипортера (C137T), мембранного белка (A545G) и АТФ-связывающего белка (G857T) стабильно наследовались при культивировании бактерий в отсутствие селективного давления триклозана (рис. 8).

Мутация в гене *fabI*, по-видимому, очень важна для формирования устойчивости к триклозану, так как зафиксирована нами в двух независимых вариантах триклозан-устойчивых штаммов, а также описана в публикациях других авторов. Важно также, что другие описанные в резистентных штаммах мутации локализованы в генах, ассоциированных с транспортом веществ в клетке. Это еще раз подтверждает важность транспортной функции бактериальной клетки при формировании устойчивости к триклозану.

б) Формирование устойчивости к цетилпиридиния хлориду у *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* и *C. albicans*

Формирование устойчивости к антисептику цетилпиридиния хлориду изучали на коллекции типовых штаммов *K. pneumoniae* ATCC13883, *P. aeruginosa* ATCC10145, *S. aureus* ATCC25923 и *C. albicans* ATCC10231, которые относятся к видам наиболее характерных возбудителей инфекций верхних дыхательных путей.

Анализ динамики формирования устойчивости к цетилпиридиния хлориду показал, что штамм *P. aeruginosa* ATCC10145 в условиях селективного давления ступенчато повышающихся концентраций антисептика, достаточно быстро (в течение 23 дней, 8 пассажей) сформировал устойчивость к концентрации 150 000 мг/л (15%) этого препарата, уровень устойчивости штамма при этом увеличился в 300 раз по сравнению с исходным (рис. 9А).

Устойчивость к цетилпиридиния хлориду в концентрации, превышающей используемую в стоматологии, при пассировании в условиях селективного давления отмечен также у штамма *K. pneumoniae* ATCC13883: за 44 су (12 пассажей) получен вариант штамма, устойчивый к 4000 мг/л (0,4%)

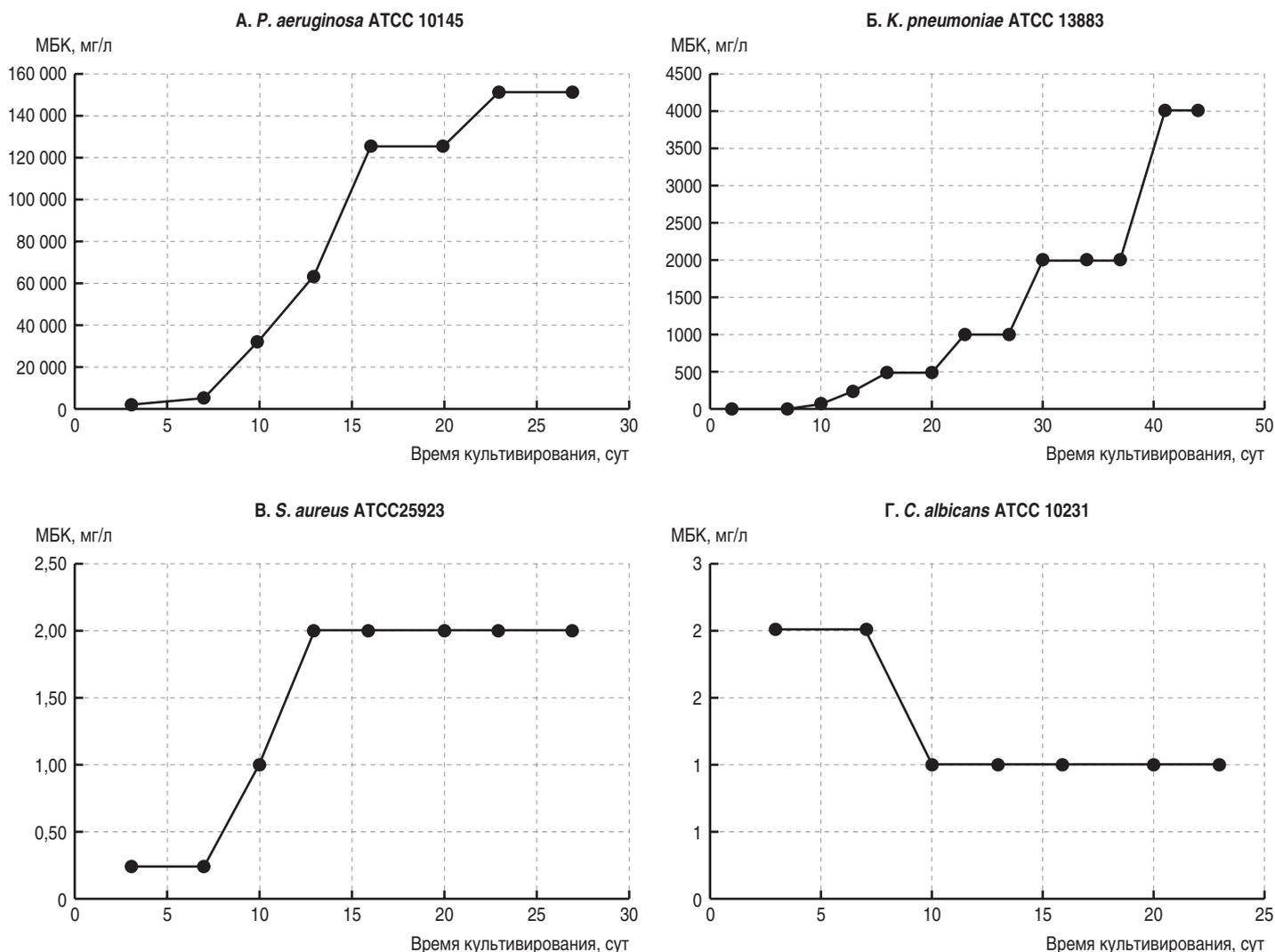


Рис. 9. Формирование устойчивости к цетилпиридиния хлориду в жидкой питательной среде у штаммов *P. aeruginosa* ATCC 10145 (А), *K. pneumoniae* ATCC 13883 (Б), *S. aureus* ATCC25923 (В) и *C. albicans* ATCC 10231 (Г).

препарата, что в 500 раз превышает исходный уровень (рис. 9Б).

Штамм стафилококка *S. aureus* ATCC25923 не сформировал устойчивого к используемой в клинической практике концентрации цетилпиридиния хлорида варианта: за 27 суток (8 пассажей) в условиях селективного давления антисептика произошло повышение МБК в 8 раз до концентрации 2 мг/л (0,0002%), что не выходит за рамки чувствительности (рис. 9В).

Культивирование штамма патогенного дрожжеподобного гриба *C. albicans* ATCC10231 в условиях селективного давления цетилпиридиния хлорида не привело к получению устойчивых клонов, более того, при пассировании в течение 23 сут (7 пассажей) значение МБК антисептика для данного штамма понизилось с 2 мг/л (0,0002%) до 1 мг/л (0,0001%) (рис. 9Г).

Заключение

В ходе исследования разработан методический подход, позволяющий проводить сравнительный анализ чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, в том числе к антисептикам и дезинфектантам, в планктонном состоянии и для биопленок. С помощью данного подхода показано, что в подавляющем большинстве случаев биопленки современных клинических штаммов, проявляют значительно большую устойчивость к антибактериальным препаратам, по сравнению с планктонными клетками.

На основании полученных результатов была установлена эффективная концентрация хлоргексидина против клинических штаммов бактерий, составляющая не менее 1,5%, применение которой в программе ухода за пациентами отделения нейрореанимации г. Москвы позволило уменьшить интенсивность циркуляции патогенов – возбудителей нозокомиальных инфекций и снизить уровень заболеваемости инфекциями дыхательной системы пациентов, находящихся на искусственной вентиляции легких.

Показано, что в условиях селективного давления субингибирующих концентраций антисептиков (на примере антисептиков разных функциональных классов – хлоргексидина и цетилпиридиния хлорида) микроорганизмы способны формировать резистентные клоны, причем представители некоторых видов демонстрировали высокую скорость и эффективность данного процесса (*P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* и *S. aureus*).

На примере штамма *S. aureus* ATCC25923 показано с помощью полногеномного секвенирования, что молекулярным механизмом формирования устойчивости к антисептикам (триклозан) является накопление мутаций в генах, ассоциированных с мишенями действия антибактериальных препаратов (ген *fabI* для триклозана), а также в генах, ассоциированных с транспортом веществ в клетке.

Углубленный анализ чувствительности к антибактериальным препаратам у представителей госпитальных патогенов, включая моделирование бактериальных биопленок для оценки реальной чувствительности к антисептикам и дезинфектантам, а также изучение молекулярно-генетических механизмов адаптации бактерий к антисептическим препаратам, является весьма актуальным и важным научным на-

правлением, необходимым для совершенствования контроля внутрибольничных инфекций в Российской Федерации.

Финансирование работ

Данная работа выполнена в рамках Федеральных НИР Роспотребнадзора №049 «Мониторинг и изучение свойств возбудителей пищевых и госпитальных инфекций, разработка средств их диагностики» и №062 «Геномный, протеомный и метагеномный анализ штаммов, депонированных в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур («ГКПМ-Оболensk»)».

Литература

- Bardossy AC, Zervos J, Zervos M. Preventing Hospital-acquired Infections in Low-income and Middle-income Countries: Impact, Gaps, and Opportunities. *Infect Dis Clin North Am.* 2016 Sep;30(3):805-18. DOI: 10.1016/j.idc.2016.04.006
- Попова АЮ, Ежлова ЕБ, Игонина ЕИ. Надзор за соблюдением санитарно-эпидемиологического законодательства при оказании медицинской помощи в целях обеспечения ее качества и безопасности. *Вестник Росздравнадзора.* 2016;1:74-8.
- Авчинников АВ, Егоричева СД. Гигиенические аспекты профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи в акушерских стационарах. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии.* 2015; 14(3):92-6.
- О санитарно-эпидемиологической обстановке в Российской Федерации в 2014 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителя и благополучия человека центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2015; 206 с.
- Медведева ВВ, Богданова ОЮ. Заболевания новорожденных и родильниц за 10 лет с 2000-по 2010 гг., вызванные бактериями рода Стафилококк, вида *St. Neamolyticus* в г. Мончегорске Мурманской области. *Здоровье населения и среда обитания.* 2011;9:8-13.
- Oliveira A, Pereira VC, Pinheiro L, Riboli DFM, Martins KB, Cunha Oliveira ML. Antimicrobial Resistance Profile of Planktonic and Biofilm Cells of *Staphylococcus aureus* and Coagulase-Negative *Staphylococci*. *Int J Mol Sci.* 2016 Sep 1;17(9). pii: E1423. DOI: 10.3390/ijms17091423
- Любасовская ЛА, Корниенко МА, Припутневич ТВ. Микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика коагулазонегативных стафилококков, выделенных у новорожденных отделения реанимации и интенсивной терапии. *Антибиотики и химиотерапия.* 2013;58(3-4):25-32.
- Falco A, Ramos Y, Franco E, Guzmán A, Takiff H. A cluster of *KPC-2* and *VIM-2*-producing *Klebsiella pneumoniae* ST833 isolates from the pediatric service of a Venezuelan Hospital. *BMC Infect Dis.* 2016 Oct 22;16(1):595. DOI: 10.1186/s12879-016-1927-y
- Chatterjee S, Datta S, Roy S, Ramanan L, Saha A, Viswanathan R, et al. Carbapenem Resistance in *Acinetobacter baumannii* and Other *Acinetobacter* spp. Causing Neonatal Sepsis: Focus on NDM-1 and Its Linkage to ISAba125. *Front Microbiol.* 2016 Aug 8;7:1126. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01126
- Walker J, Jhutti A, Parks S, Willis C, Copley V, Turton JF, et al. Investigation of healthcare-acquired infections associated with *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in taps in neonatal units in Northern Ireland. *J Hosp Infect.* 2014 Jan;86(1):16-23. DOI: 10.1016/j.jhin.2013.10.003
- Munton TJ, Russell AD. Aspects of the action of glutaraldehyde on *Escherichia coli*. *J. Appl. Bacteriol.* 1970;33:410-9.
- Баринов АЛ, Корначев АС. Эпидемиологический надзор за инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи, в отделениях патологии новорожденных на основе нового подхода к организации микробиологического мониторинга. *Здоровье населения и среда обитания.* 2015;2:42-4.

13. Яковлева СВ, Сидоренко СВ, Рафальского ВВ, Спичак ТВ. Стратегия и тактика рационального применения антимикробных средств в амбулаторной практике: Российские практические рекомендации. М.: Издательство Престо, 2014; 121 с.
14. Svensater G, Welin J, Wilkins JC, Beighton D, Hamilton IR. Protein expression by planktonic and biofilm cells of *Streptococcus mutans*. FEMS Microbiol Lett. 2001 Nov 27;205(1):139-46.
15. Lanjri S, Uwingabiye J, Frikh M, Abdellatifi L, Kasouati J, Maleb A, et al. In vitro evaluation of the susceptibility of *Acinetobacter baumannii* isolates to antiseptics and disinfectants: comparison between clinical and environmental isolates. Antimicrob Resist Infect Control. 2017 Apr 11;6:36. DOI: 10.1186/s13756-017-0195-y
16. Huang XZ. Characteristics of plasmids in multi-drug-resistant *Enterobacteriaceae* isolated during prospective surveillance of a newly opened hospital in Iraq. PLoS One. 2012;7(7):e40360. DOI: 10.1371/journal.pone.0040360
17. Kaase M. Carbapenemases in gram-negative bacteria: Current data and trends of resistance resulting from the work of national reference centres. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. 2012 Nov;55(11-12):1401-4. DOI: 10.1007/s00103-012-1552-x
18. Национальная Концепция профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Утверждена Главным государственным санитарным врачом РФ 6 ноября 2011 г. [Электронный ресурс]. Режим доступа <http://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/70000121/#70000121> (дата обращения 29.08.2016).
19. Подкопаев ЯВ, Домотенко ЛВ, Морозова ТП, Храмов МВ, Шепелин АП. Отечественные питательные среды для диагностики гнойных бактериальных менингитов. Клиническая лабораторная диагностика. 2015;5:59-64.
20. Детушева ЕВ, Родин ВБ, Слукин ПВ, Ершова ОН, Александрова ИА, Сазыкина СЮ, и др. Чувствительность нозокомиальных штаммов *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* и *Proteus mirabilis* к антисептику на основе хлоргексидина. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2015;17(1):57-6.
21. Родин ВБ, Паников НС, Кобелев ВС, Акимова НА, Холоденко ВП. Упрощенная модель роста колоний одноклеточных микроорганизмов и ее использование для оценки воздействия биоцидов на микробные клетки. Прикладная биохимия и микробиология. 1998;34(4):403-9.
22. Thomas JC, Khoury R, Neeley CK, Akroush AM, Davies EC. Fast CTAB Method of Human DNA Isolation for Polymerase Chain Reaction Applications. Biochem. 1997;25(4):233-5.
23. Nielsen LN, Larsen MH, Skovgaard S, Kastbjerg V, Westh H, Gram L, Ingmer H.. *Staphylococcus aureus* but not *Listeria monocytogenes* adapt to triclosan and adaptation correlates with increased *fabI* expression and *agr* deficiency. BMC Microbiol. 2013 Jul 30;13:177. DOI: 10.1186/1471-2180-13-177
24. Ершова ОН, Александрова ИА, Сазыкина СЮ, Курдюмова НВ. Тезисы XVII Международного конгресса МАКМАХ по антимикробной терапии. Москва, 20-22 мая 2015 г. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2015;17(2) Прил. 1:17.
25. Ciusa ML, Furi L, Knight D, Decorosi F, Fondi M, et al. A novel resistance mechanism to triclosan that suggests horizontal gene transfer and demonstrates a potential selective pressure for reduced biocide susceptibility in clinical strains of *Staphylococcus aureus*. Int J Antimicrob Agents. 2012 Sep;40(3):210-20. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2012.04.021
- in order to ensure its quality and safety. Vestnik Roszdravnadzora. 2016;1:74-8. (In Russian).
3. Avchinnikov AV, Egoricheva SD. Hygienic aspects of prevention of healthcare associated infection in maternity homes. Vestnik of the Smolensk State Medical Academy. 2015;14(3):92-6. (In Russian).
4. On the sanitary-epidemiological situation in Russian Federation in 2014: State report. Moscow, 2015; 206 p. (In Russian).
5. Medvedev VV, Bogdanova OU. Diseases of newly-born children and puerperant,s during 10 years, from 2000 till 2010, caused by bacteroides *Staphylococcus*, *St. haemolyticus* in Monchegorsk Murmansk region. Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya. 2011;9:8-13. (In Russian).
6. Oliveira A, Pereira VC, Pinheiro L, Riboli DFM, Martins KB, Cunha Oliveira ML. Antimicrobial Resistance Profile of Planktonic and Biofilm Cells of *Staphylococcus aureus* and Coagulase-Negative Staphylococci. Int J Mol Sci. 2016 Sep 1;17(9). pii: E1423. DOI: 10.3390/ijms17091423
7. Lubasovskaya LA, Kornienko MA, Pripitnevich TV, Ilyina EN, Shchegolev AI. Microbiological and Molecular Genetic Characteristics of Coagulase-Negative Staphylococcal Isolates from Neonates in Intensive Care Unit. Antibiotics and Chemotherapy. 2013;58(3-4):25-32. (In Russian).
8. Falco A, Ramos Y, Franco E, Guzmán A, Takiff H. A cluster of *KPC-2* and *VIM-2*-producing *Klebsiella pneumoniae* ST833 isolates from the pediatric service of a Venezuelan Hospital. BMC Infect Dis. 2016 Oct 22;16(1):595. DOI: 10.1186/s12879-016-1927-y
9. Chatterjee S, Datta S, Roy S, Ramanan L, Saha A, Viswanathan R, et al. Carbapenem Resistance in *Acinetobacter baumannii* and Other *Acinetobacter* spp. Causing Neonatal Sepsis: Focus on NDM-1 and Its Linkage to ISAba125. Front Microbiol. 2016 Aug 8;7:1126. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01126
10. Walker J, Jhutti A, Parks S, Willis C, Copley V, Turton JF, et al. Investigation of healthcare-acquired infections associated with *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in taps in neonatal units in Northern Ireland. J Hosp Infect. 2014 Jan;86(1):16-23. DOI: 10.1016/j.jhin.2013.10.003
11. Munton TJ, Russell AD. Aspects of the action of glutaraldehyde on *Escherichia coli*. J. Appl. Bacteriol. 1970;33:410-9.
12. Barinov AL, Kornachyov AS. Epidemiological surveillance of healthcare associated infections in neonatal pathology units-based on a new approach in microbiological monitoring organisation. Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya. 2015;2:42-4. (In Russian).
13. Yakovleva SV, Sidorenko SV, Rafal'skogo VV, Spichak TV. Strategy and tactics for the rational use of antimicrobial agents in ambulatory practice: Russian practical recommendations. Moscow: "Presto" Publ., 2014; 121 p. (In Russian).
14. Svensater G, Welin J, Wilkins JC, Beighton D, Hamilton IR. Protein expression by planktonic and biofilm cells of *Streptococcus mutans*. FEMS Microbiol Lett. 2001 Nov 27;205(1):139-46.
15. Lanjri S, Uwingabiye J, Frikh M, Abdellatifi L, Kasouati J, Maleb A, et al. In vitro evaluation of the susceptibility of *Acinetobacter baumannii* isolates to antiseptics and disinfectants: comparison between clinical and environmental isolates. Antimicrob Resist Infect Control. 2017 Apr 11;6:36. DOI: 10.1186/s13756-017-0195-y
16. Huang XZ. Characteristics of plasmids in multi-drug-resistant *Enterobacteriaceae* isolated during prospective surveillance of a newly opened hospital in Iraq. PLoS One. 2012;7(7):e40360. DOI: 10.1371/journal.pone.0040360
17. Kaase M. Carbapenemases in gram-negative bacteria: Current data and trends of resistance resulting from the work of national reference centres. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. 2012 Nov;55(11-12):1401-4. DOI: 10.1007/s00103-012-1552-x
18. The national Concept of prevention of infections associated with health care. Approved Chief state sanitary doctor of the Russian Federation November 6, 2011. [Internet]. Available at <http://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/70000121/#70000121> (accessed 29.08.2016). (In Russian).

References

1. Bardossy AC, Zervos J, Zervos M. Preventing Hospital-acquired Infections in Low-income and Middle-income Countries: Impact, Gaps, and Opportunities. Infect Dis Clin North Am. 2016 Sep;30(3):805-18. DOI: 10.1016/j.idc.2016.04.006
2. Popova AY, Ezhlova EB, Igonina EP, Melnikova AA, Frolova NV. Supervision over compliance with sanitary-epidemiological legislation in the provision of healthcare

19. Podkopaev YaV, Domotenko LV, Morozova TP, Khramov MV, Shepelin AP. The national nutrient medium for diagnostic of purulent bacterial meningitis. Russian Clinical Laboratory Diagnostics. 2015;5:59-64. (In Russian).
20. Detusheva EV, Rodin VB, Slukin PV, Ershova ON, Aleksandrova IA, Kurdyumova NV, et al. Susceptibility of Nosocomial *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, and *P. mirabilis* Strains to a Chlorhexidine-Based Antiseptic Preparation. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2015;17(1):57-6. (In Russian).
21. Rodin VB, Panikov NS, Kobelev VS, Akimova NA, Kholodenko VP. Simplified model of increase in colony diameter during growth of unicellular microorganisms and its use in evaluating the effect of biocides on microbial cells. Applied Biochemistry and Microbiology. 1998;34(4):403-9. (In Russian).
22. Thomas JC, Khoury R, Neeley CK, Akroush AM, Davies EC. Fast CTAB Method of Human DNA Isolation for Polymerase Chain Reaction Applications. Biochem. 1997;25(4):233-5.
23. Nielsen LN, Larsen MH, Skovgaard S, Kastbjerg V, Westh H, Gram L, Ingmer H.. Staphylococcus aureus but not Listeria monocytogenes adapt to triclosan and adaptation correlates with increased fabI expression and agr deficiency. BMC Microbiol. 2013 Jul 30;13:177. DOI: 10.1186/1471-2180-13-177
24. Ershova ON, Aleksandrova IA, Sazykina SYu, Kurdyumova NV. Tezisy XVII Mezhdunarodnogo kongressa MAKMAKh po antimikrobnoi terapii. Moscow, 20-22 May 2015. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2015;17(2) Прил. 1:17. (In Russian).
25. Ciusa ML, Furi L, Knight D, Decorosi F, Fondi M, et al. A novel resistance mechanism to triclosan that suggests horizontal gene transfer and demonstrates a potential selective pressure for reduced biocide susceptibility in clinical strains of *Staphylococcus aureus*. Int J Antimicrob Agents. 2012 Sep;40(3):210-20. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2012.04.021

Информация об авторах:

Дятлов Иван Алексеевич, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
 Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ
 Телефон: (4967) 36-0003

Детушева Елена Владимировна, кандидат биологических наук, сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
 Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ
 Телефон: (4967) 36-0003

Мицевич Ирина Петровна, научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
 Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ
 Телефон: (4967) 36-0003

Детушев Константин Владимирович, научный сотрудник отдела коллекционных культур ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
 Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ
 Телефон: (4967) 36-0003

Подкопаев Ярослав Васильевич, младший научный сотрудник лаборатории разработки питательных сред ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
 Адрес: 142279 Россия, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ
 Телефон: +7 (4967) 36-0017

Information about authors:

Ivan A. Dyatlov, Academician of RAS, Dr. Sci. (Med), Professor, Director, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare
 Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
 Phone: (4967) 36-0003

Elena V. Detusheva, Cand. Sci. (Biol.), Researcher, Antimicrobial Agents Lab., Molecular Microbiology Dep., FBIS State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare
 Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
 Phone: (4967) 36-0003

Irina P. Mitsevich, Researcher of Antimicrobial Agents Lab., Molecular Microbiology Dep., FBIS State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare
 Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
 Phone: (4967) 36-0003

Konstantin V. Detushev, Researcher of Microbial Collection Dep., State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare
 Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
 Phone: (4967) 36-0003

Yaroslav V. Podkopaev, Scientist of Nutrient Media Lab., State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
 Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
 Phone: +7 (4967) 36-0017
 E-mail: polosenko@obolensk.org

НОВОСТИ НАУКИ

Группа исследователей из Университета Центральной Флориды открыли новое потенциальное средство борьбы с туберкулезом

Дормантная форма *Mycobacterium tuberculosis* представляет собой серьезную проблему при лечении заболевания, поскольку эти бактерии являются толерантными к препаратам первой линии. Поэтому крайне важно найти новые соединения, которые эффективно уничтожают неактивные бактерии. Путем скрининга 4400 образцов морских природных продуктов были идентифицированы соединения, избирательно активные против покоящихся форм возбудителя туберкулеза. Структуры пяти очищенных активных соединений были определены методом ЯМР и масс-спектрометрии.

Rodrigues Felix C. et al.

Selective Killing Of Dormant *Mycobacterium tuberculosis* By Marine Natural Products. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2017. P. AAC.00743-17.