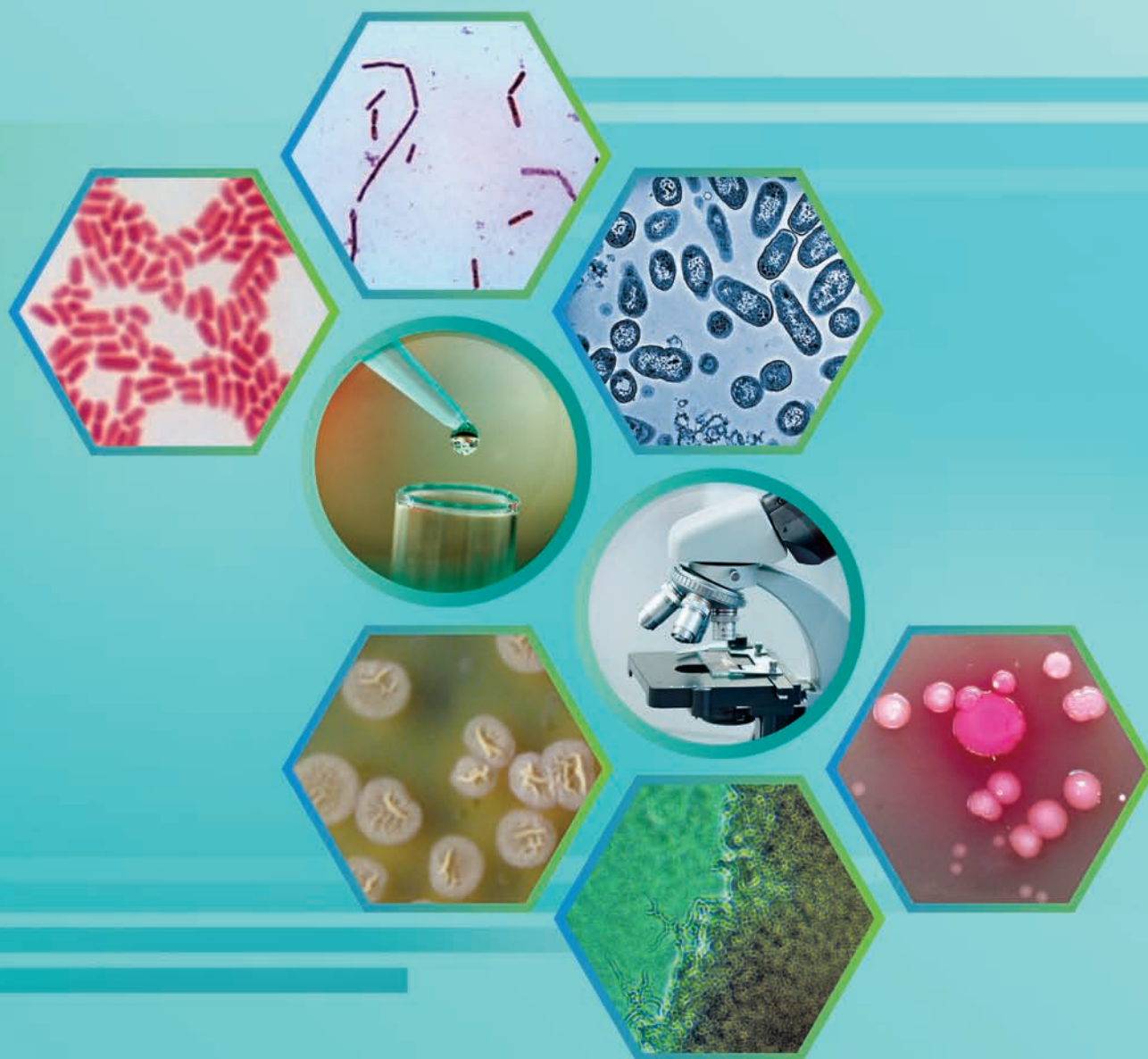


БАКТЕРИОЛОГИЯ

Bacteriology



2021 • ТОМ 6 • №2

ISSN 2500-1027

БАКТЕРИОЛОГИЯ

Научно - практический журнал

Главный редактор

И.А.Дятлов, академик РАН, д.м.н., профессор
(Россия)

Ответственный секретарь

И.Г.Говорунов, к.б.н.
(Россия)

Редакционный совет

А.П.Анисимов, д.м.н., проф. (Россия)
С.В.Балахонов, д.м.н., проф. (Россия)
А.Н.Куличенко, член-корр. РАН, д.м.н., проф. (Россия)
В.В.Кутырев, академик РАН, д.м.н., проф. (Россия)
Н.В.Рудаков, д.м.н., проф. (Россия)
Сун Чжичжоу (Китай)

Редколлегия

Адьяасүрэн Зэвиймядагийн, к.м.н. (Монголия)	С.Г.Марданлы, д.м.н. (Россия)
И.А.Базиков, д.м.н., проф. (Россия)	Т.В.Мека-Меченко, д.м.н. (Казахстан)
В.А.Горбунов, к.м.н. (Белоруссия)	В.Л.Мотин, проф. (США)
С.В.Дентовская, д.м.н. (Россия)	Т.В.Припутневич, д.м.н. (Россия)
Л.В.Домотенко, к.х.н. (Россия)	А.Ракин (Германия)
Г.А.Каримова, к.б.н. (Франция)	Э.А.Светоч, д.в.н., проф. (Россия)
А.В.Карлышев, к.х.н., проф. (Англия)	В.Н.Царев, д.м.н., проф. (Россия)
Л.В.Коломбет, д.б.н. (Россия)	Л.Н.Черноусова, д.б.н., проф. (Россия)
М.Косой, к.б.н. (США)	К.Ю.Шаталин, к.б.н. (США)
Ш.Х.О.Курбанов, к.м.н. (Азербайджан)	И.Г.Шемякин, д.б.н., проф. (Россия)
И.Х.Маматкулов, д.м.н., проф. (Узбекистан)	А.П.Шепелин, д.б.н. (Россия)

Учредитель

© Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Адрес учредителя и редакции:

142279, Московская область,
г.о. Серпухов, р.п. Оболенск,
Территория «Квартал А», д. 24,
ФБУН ГНЦ ПМБ

Телефон: +7-4967-360003
+7-4967-360046
Факс: +7-4967-360010

E-mail: bacteriology@obolensk.org
info@obolensk.org

Издатель

© «Издательство «Династия»



www.phdynasty.ru

117149, Москва, Азовская ул., д. 6, корпус 3

Подписано в печать 30.08.2021 г.

Отпечатано: Мастерская печати Old School,
603105, Нижний Новгород, ул. Чачиной, 39а, оф. 5

Журнал зарегистрирован
Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных
технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)
Регистрационный номер
ПИ №ФС 77-66792 от 15.08.2016 г.

Журнал «Бактериология»
является рецензируемым изданием.

Выходит четыре раза в год.
Основан в 2016 году.

Редакция не несет ответственности
за содержание рекламных материалов.

Тираж 1530 экз. Цена свободная.

Отдел рекламы:
Телефон: +7 495 660-6004
E-mail: reklama@phdynasty.ru

Подписной индекс по объединенному
каталогу «Пресса России»: 39920

Колонка главного редактора

- О текущих результатах выполнения программы создания и развития Центра геномных исследований мирового уровня в области обеспечения биологической безопасности и технологической независимости (ЦГИМУ) **5**

Экспериментальные статьи

- Эффективность фаготерапии экспериментальной эшерихиозной инфекции у мышей
А.И.Борзилов, О.В.Коробова, Т.И.Комбарова, Е.А.Денисенко, В.В.Верёвкин, Е.А.Ганина, Н.В.Воложанцев **8**
- Лиофилизированное антимикробное средство на основе эндогенных дефензинов
И.А.Базиков, А.Н.Мальцев, А.А.Ефременко, М.В.Рубайло, Ф.И.Базиков **23**
- Использование радиационной стерилизации в производстве готовых к применению питательных сред
А.П.Шепелин, И.И.Марчихина, О.В.Полосенко, Л.П.Шолохова **27**
- Сравнительный анализ питательных сред отечественных и зарубежных производителей для выделения кампилобактерий
А.А.Кремлева, Ю.А.Скоморина, Л.Ш.Ахметова, Т.В.Подольская, А.П.Шепелин, О.В.Полосенко **32**
- Влияние состава питательной среды на прирост биомассы и синтез противомикробных метаболитов пробиотических штаммов *Bacillus subtilis*
С.А.Лазарев, В.Г.Арзуманян, Н.А.Михайлова **38**
- Результаты дозорного эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией среди потребителей наркотиков инъекционным путем
Г.Х.Ражабов, Д.Д.Умаров **43**

Обзорная статья

- Биопленки микроорганизмов в урологии: клиническая значимость и контроль связанных с ними инфекций
З.М.Ермоленко, П.В.Слукин, Н.К.Фурсова **47**

Образовательная деятельность

- Опыт преподавания медицинской микробиологии на медико-профилактическом факультете
Г.Ш.Исаева, Г.Г.Бадамшина, С.Н.Габидуллина **62**
- Правила оформления статей (основные положения) **68**

BACTERIOLOGY

Scientific and Practical Journal

Editor-in-Chief

I.A.Dyatlov, academician of RAS
(Russia)

Executive Secretary

I.G.Govorunov, PhD
(Russia)

Editorial Council

A.P.Anisimov, Sc.D., prof. (Russia)
S.V.Balakhonov, Sc.D., prof. (Russia)
A.N.Kulichenko, corr. member of RAS, Sc.D., prof. (Russia)
V.V.Kutyrev, academician of RAS, Sc.D., prof. (Russia)
N.V.Rudakov, Sc.D., prof. (Russia)
Sun Chzhichzhou (China)

Editorial Board

Ad"yaasyren Zeviiymadagiin, PhD (Mongolia)	I.Kh.Mamatkulov, Sc.D., prof. (Uzbekistan)
I.A.Bazikov, Sc.D., prof. (Russia)	S.G.Mardanly, Sc.D. (Russia)
L.N.Chernousova, Sc.D., prof. (Russia)	T.V.Meka-Mechenko, Sc.D. (Kazakhstan)
S.V.Dentovskaya, Sc.D. (Russia)	V.L.Motin, prof. (USA)
L.V.Domotenko, PhD (Russia)	T.V.Priputnevich, ScD (Russia)
V.A.Gorbunov, PhD (Belarus)	A.Rakin (Germany)
G.A.Karimova, PhD (France)	K.Yu.Shatalin, PhD (USA)
A.V.Karlyshev, PhD, prof. (England)	I.G.Shemyakin, Sc.D., prof. (Russia)
L.V.Kolombet, Sc.D. (Russia)	A.P.Shepelin, Sc.D. (Russia)
M.Kosoi, PhD (USA)	E.A.Svetoch, Sc.D., prof. (Russia)
Sh.Kh.O.Kurbanov, PhD (Azerbaijan)	V.N.Tsarev, Sc.D., prof. (Russia)

Founder and Publisher

© State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology

Editorial Office:

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Obolensk, Moscow region, 142279
Phone: +7-4967-360003, +7-4967-360046
Fax: +7-4967-360010
E-mail: bacteriology@obolensk.org
info@obolensk.org

Publisher

© «Dynasty» Publishing House



www.phdynasty.ru

Advertising Department:

Phone: +7 495 660 6004; e-mail: reklama@phdynasty.ru

Editor-in-Chief's Introduction

Current results of the implementation of the program for the creation and development of a world-class Genomic Research Center in the field of biological safety and technological independence (TSGIMU)	5
--	---

Experimental Articles

Phage therapy efficiency of experimental escherichiosis infection in mice <i>A.I.Borzilov, O.V.Korobova, T.I.Kombarova, E.A.Denisenko, V.V.Verevkin, E.A.Ganina, N.V.Volozhantsev</i>	8
Lyophilized antimicrobial agent based on endogenic defensins <i>I.A.Bazikov, A.N.Maltsev, A.A.Efremenko, M.V.Rubailo, F.I.Bazikov</i>	23
Application of radiation sterilization in the production of ready-to-use nutrient media <i>A.P.Shepelin, I.I.Marchikhina, O.V.Polosenko, L.P.Sholokhova</i>	27
Comparative analysis of medium for isolation of <i>Campylobacter</i> spp. of domestic and foreign producers <i>A.A.Kremleva, Yu.A.Skomorina, L.Sh.Akhmetova, T.V.Podolskaya, A.P.Shepelin, O.V.Polosenko</i>	32
Influence of nutrient medium composition on biomass growth and antimicrobial metabolites synthesis of <i>Bacillus subtilis</i> probiotic strains <i>S.A.Lazarev, V.G.Arzumanyan, N.A.Mikhailova</i>	38
Results of HIV infection sentinel epidemiological surveillance among injecting drug users <i>G.Kh.Rajabov, D.D.Umarov</i>	43

Review Article

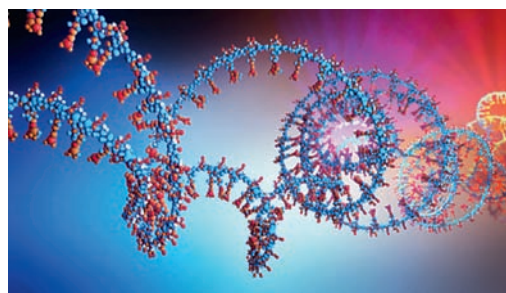
Microbial biofilms in urology: clinical significance and control of associated infections <i>Z.M.Ermolenko, P.V.Slugin, N.K.Fursova</i>	47
--	----

Educational Activities

A teaching experience of medical microbiology at the faculty of medicine and prevention <i>G.Sh.Isaeva, G.G.Badamshina, S.N.Gabidullina</i>	62
Instructions for Authors	68

О текущих результатах выполнения программы создания и развития Центра геномных исследований мирового уровня в области обеспечения биологической безопасности и технологической независимости (ЦГИМУ)

В соответствии с Указом Президента РФ (№680 от 28.11.2018) разработана и утверждена Правительством РФ (Постановление №479 от 22.04.2019) Федеральная научно-техническая программа развития генетических технологий на 2019–2027 годы, целью которой является комплексное решение задач ускоренного развития генетических технологий, в том числе технологий генетического редактирования, и создание научно-технологических заделов для медицины, сельского хозяйства и промышленности, а также совершенствование мер предупреждения чрезвычайных ситуаций биологического характера



ЦГИМУ создан на конкурсной основе в составе трех учреждений: ФБУН «ГНЦ ПМБ», ФБУН «ГНЦ ВБ «Вектор», ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии». Основной задачей Центра является развитие генетических технологий в сфере борьбы с опасными инфекционными болезнями путем создания эффективных средств диагностики, профилактики и лечения, широкое распространение и внедрение разработанных методологий в научные исследования и разработки, а также образовательные процессы.

Для информационной поддержки направления к настоящему времени создан и находится в стадии тестирования «Национальный интерактивный каталог патогенных микроорганизмов и биотоксинов», направленный на объединение всех коллекционных фондов страны в единую базу данных, позволяющую в ускоренном режиме проводить идентификацию выделенных патогенов, определять их свойства и происхождение, предсказывать появление новых форм. Наполненный каталог будет содержать данные о примерно 40 тыс. штаммов патогенов, что сравнимо с самой крупной коллекцией такой направленности – АТСС (США).

Проведены работы по формированию электронно-вычислительной инфраструктуры на базе ФБУН «ГНЦ ПМБ» для обеспечения работы каталога. Развернута отказоустойчивая структура, объединяющей виртуальные системы, сети и хранилища в единые пулы ресурсов информационной системы национального каталога. Проведены тесты на расчетную величину бесперебойной работы комплекса технических средств. Установлены виртуальные машины. На созданных серверных мощностях ФБУН «ГНЦ ПМБ» установлено специализированное программное обеспечение для функционирования каталога, разработанное ФГАНУ «Центр информационных технологий и систем органов исполнительной власти». Проведены проверка работоспособности и опытная эксплуатация «Национального интерактивного каталога патогенных микроорганизмов и биотоксинов». Таким образом, каталог уже работает в тестовом режиме и продолжается отладка его компонентов.

В развитие каталогизации патогенов разрабатывается направление по изучению вирома Российской Федерации путем сбора образцов от людей с тяжелым и атипичным течением заболевания, от пациентов с летальным исходом, от больных и мертвых млекопитающих, от насекомых и из объектов внешней среды. Изучено более 2000 объектов и выявлен ряд возбудителей геморрагических лихорадок. Определены полногеномные последовательности большого количества изолятов нового коронавируса SARS-CoV-2.

В диагностическом направлении разрабатываются и уже частично внедрены подходы на основе метагеномного анализа (секвенирование всех НК в пробах), создаются мультиплексные тест-системы для полимеразной цепной реакции (ПЦР), LAMP-, ИХ- и ИФА-тесты, с конечной задачей создать генетические и иммунохимические компоненты для всех опасных инфекционных агентов, обеспечив быстрое развертывание массовых производств в случае возникновения биологических угроз. Принципиально новым является создание систем точной диагностики на основе системы генетического редактирования (CRISPR-Cas), совмещенной с LAMP, организация отечественного производства компонентов системы, часть из которых уже клонирована и получены продуценты. Система успешно испытана при выявлении возбудителя туляремии и будет тиражирована для других возбудителей.

При разработке методов быстрой оценки гуморального и клеточного иммунного ответа при COVID-19 с использованием собственных рекомбинантных антигенов SARS-CoV-2 создан ряд серологических тестов для выявления антител и антигенов и организован их выпуск – ИФА-тесты на антитела (10 млн исследований), ИХ-тесты на антитела (200 тыс.) и на антиген (1 млн с расширением производства до 3 млн в год). ИХ-тесты на антиген полностью из отечественных парных сывороток имеют высокую чувствительность на уровне ПЦР и дают результат за 5–7 мин. Высокая чувствительность (на уровне 1 пг на мл) достигнута за счет детектирования антигена подобранным сочетанием поликлональных и моноклональных иммуноглобулинов в ИХ-тесте. В стадии регистрации полоски ИХ-тестов, упакованные в тубы, для проведения массовых анализов, что в настоящий период наиболее актуально.

В сфере создания новых препаратов для специфической профилактики опасных инфекций созданы прототипы генно-инженерных вакцин против чумы, сибирской язвы, туляремии и эшерихиозов, разработаны пилотные технологии их производства. Впервые получена высокая степень защиты животных от заражения высокопатогенными, наиболее актуальными штаммами возбудителя энтерогеоморрагического эшерихиоза при использовании полисахаридной вакцины нового поколения. При разработке живой культуральной вакцины против сезонного гриппа с помощью технологии обратной генетики созданы 4 клона рекомбинантных вирусов гриппа 4 субтипов с целью получения 4-валентной кандидатной живой аттенуированной вакцины. Получены стабильные клеточные линии – продуценты вирусных белков 2 сегментов вируса Конго-крымской геморрагической лихорадки с перспективой создания вакцины. Проведен дизайн ДНК-вакцин и синтез генов, кодирующих белки S и RBD SARS-CoV-2. Показано, что эти вакцины обеспечивают синтез соответствующих мРНК и целевых белков S и RBD SARS-CoV-2 в эукариотах.

С целью решения проблем антибиотикорезистентности, нарастающих в связи с осложнениями COVID-19, проведены генно-инженерные разработки по получению рекомбинантных молекул бактериофагов – эндолизиннов, разрушающих клеточную стенку бактерий, и деполимераз, разрушающих биопленки, которые в сочетании с антибиотиками позволяют значительно повысить терапевтический эффект. Нарботаны образцы нативного бактериоцина – мундтицина P436 – широкого спектра действия. Полученные образцы препаратов всесторонне изучены на биологических моделях и имеют выраженную клиническую перспективу. Разрабатываются методы выявления патогенных грибов, актуальных в период пандемии, создан вариант селективной питательной среды для выделения особо патогенного высокорезистентного возбудителя *Candida auris*, разработаны варианты мультиплексного ПЦР-анализа для идентификации патогенных грибов, в том числе в формате LAMP. Продолжается пополнение коллекции резистентных штаммов с охарактеризованными генами устойчивости для мониторинга ситуации по распространению существующих и появлению новых полирезистентных штаммов в период пандемии.

Разработки терапевтических препаратов в рамках Центра ведутся в двух направлениях – создание терапевтических человеческих моноклональных антител и использование системы генетического редактирования CRISPR-Cas. Разработана технология селекции специфических плазмобластов человека, синтезирующих антитела, направленные к целевым токсинам – ботулотоксину, рицину и шигатоксину второго типа. Созданы штаммы-продуценты соответствующих моноклональных антител, которые испытаны на токсиннейтрализующую

активность с положительным эффектом. Продолжена разработка терапевтических препаратов на основе моноклональных антител для лечения вирусных инфекций – лихорадки Западного Нила и геморрагической лихорадки с почечным синдромом.

При создании подходов на основе генетического редактирования для повышения устойчивости клеток иммунной системы к ВИЧ и удаления провирусов ВИЧ получены модельные клеточные линии для проверки эффективности препарата для борьбы с ВИЧ-инфекцией, экспрессирующие рецептор CD4 в комбинации с корецепторами. Проведены пилотные эксперименты по определению неспецифической активности комплексов системы CRISPR-Cas с помощью технологии SITE-seq. Технологии позволяют проводить оценку безопасности и эффективности применения белковых комплексов CRISPR-Cas в различных областях. Результаты использованы для создания кандидата в генотерапевтический препарат для лечения ВИЧ. Получены прототипы комплексов системы CRISPR-Cas (II, V и VI типа) для создания отечественной производственной платформы, получены белки Cas13d, Cas14a1 и Cas12g1, которые могут быть использованы для создания инновационных терапевтических и диагностических препаратов. Приоритетной задачей ЦГИМУ является создание отечественного производства компонентов CRISPR-Cas-системы для расширения исследовательских работ и конструирования новых препаратов на основе генетического редактирования.

*Директор
ФБУН «Государственный научный центр
прикладной микробиологии и биотехнологии»
Роспотребнадзора, академик РАН
И.А.Дятлов*

Эффективность фаготерапии экспериментальной эшерихиозной инфекции у мышей

А.И.Борзилов, О.В.Коробова, Т.И.Комбарова, Е.А.Денисенко, В.В.Верёвкин, Е.А.Ганина, Н.В.Воложанцев

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

Длительное использование антибиотиков в медицинской практике, ветеринарии и неадекватное их применение в быту привело к широкому распространению штаммов бактерий с множественной лекарственной устойчивостью. В результате в значительной степени усложнилось лечение бактериальных инфекций у человека. Стандартные схемы антибиотикотерапии зачастую оказываются неэффективными. Кроме того, антибиотики нередко вызывают различные аллергические реакции и негативно влияют на нормальную микрофлору человека. Поэтому в настоящее время ведутся поиски альтернатив антибиотикам, среди которых большой интерес вызывают литические бактериофаги, обладающие высокой специфичностью в отношении тех или иных микроорганизмов.

В своей работе мы оценили лечебно-профилактическое действие бактериофага VЕс8 на двух моделях эшерихиозной инфекции у мышей – летальном сепсисе и кишечной инфекции. В результате проведенных исследований было установлено, что однократное внутрибрюшинное введение фага в дозе 5×10^8 БОЕ в режимах профилактики или трехдневного лечения защищает от гибели и saniрует 100% мышей линии BALB/c, инфицированных летальной дозой *Escherichia coli* 3421E/19. Подобный лечебный эффект был получен при трехдневном курсе антибиотикотерапии цефтазидимом и ко-тримоксазолом.

Внутрижелудочное применение бактериофага VЕс8 для лечения эшерихиозной кишечной инфекции приводит к заметному снижению концентрации клеток *E. coli* 3421E/19 в фекалиях инфицированных мышей линии С57BL/6. Внутрибрюшинное введение фагового препарата менее эффективно saniрует кишечник от клеток патогенной кишечной палочки. Однократное назначение VЕс8 подопытным животным в режиме профилактики (за час до заражения) дает меньший лечебный эффект по сравнению с пятидневным лечебным курсом фаготерапии. Важно отметить, что внутрижелудочное введение мышам ко-тримоксазола в течение 5 дней оказывает меньший saniрующий эффект по сравнению с фаготерапией.

Таким образом, лечебная эффективность бактериофага VЕс8 как при профилактике, так и при лечении эшерихиозного сепсиса у мышей сопоставима с антибиотикотерапией. Фаг VЕс8 более эффективен при терапии кишечного эшерихиоза по сравнению с использованием эффективных *in vitro* антибиотиков. Бактериофаг VЕс8 может рассматриваться как перспективный препарат для профилактики и лечения эшерихиозной инфекции у людей.

Ключевые слова: *Escherichia coli*, экспериментальный эшерихиоз, сепсис, кишечная инфекция, мышиная модель, фаготерапия, антибиотикотерапия

Для цитирования: Борзилов А.И., Коробова О.В., Комбарова Т.И., Денисенко Е.А., Верёвкин В.В., Ганина Е.А., Воложанцев Н.В. Эффективность фаготерапии экспериментальной эшерихиозной инфекции у мышей. Бактериология. 2021; 6(2): 8–22. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-2-8-22

Phage therapy efficiency of experimental escherichiosis infection in mice

A.I.Borzilov, O.V.Korobova, T.I.Kombarova, E.A.Denisenko, V.V.Verevkin, E.A.Ganina, N.V.Volozhantsev

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

The long-term use of antibiotics in medical practice, veterinary medicine and their inadequate use in everyday life has led to the widespread of multidrug-resistant bacterial strains. As a result, the treatment of bacterial infections in humans has become much more difficult. Standard antibiotic treatment is often ineffective. In addition, antibiotics often cause various allergic reactions and negatively affect the normal human microflora. Therefore, at present, the search for alternatives to antibiotics is underway, among which of great interest are lytic bacteriophages, which have a high specificity in relation to certain microorganisms.

Для корреспонденции:

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

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24 ФБУН ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 36-0147
E-mail: borzilov@obolensk.org

Статья поступила 03.08.2021 г., принята к печати 30.08.2021 г.

For correspondence:

Alexander I. Borzilov, MD, PhD, Leading Researcher of Biological Testing Laboratory, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор

Address: SRCAMB Bld. 24, "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0147
E-mail: borzilov@obolensk.org

The article was received 03.08.2021, accepted for publication 30.08.2021

In our work, we evaluated the therapeutic and prophylactic effect of the bacteriophage VEc8 in two models of Escherichiosis infection in mice – lethal sepsis and intestinal infection. As a result of the studies, it was found that a single intraperitoneal injection of phage at a dose of 5×10^8 PFU in the prophylaxis or three-day treatment regimens protects from death and sanitizes 100% of BALB/c mice infected in a lethal dose of *Escherichia coli* 3421E/19. A similar therapeutic effect was obtained with a three-day course of antibiotic therapy with ceftazidime and co-trimoxazole.

Intragastric application of bacteriophage VEc8 for the treatment of escherichiosis intestinal infection leads to a noticeable decrease in the concentration of *E. coli* 3421E/19 cells in the feces of infected C57BL/6 mice. Intraperitoneal administration of a phage preparation less effectively sanitizes the intestines from pathogenic *E. coli* cells. A single administration of VEc8 to experimental animals in a prophylactic regimen (one hour before infection) gives a lesser therapeutic effect compared to a five-day therapeutic course of phage therapy. It is important to note that intragastric administration of co-trimoxazole to mice for 5 days has a lower sanitizing effect compared to phage therapy.

Thus, the therapeutic efficacy of bacteriophage VEc8 both in the prevention and treatment of escherichiosis sepsis in mice is comparable to antibiotic therapy. Phage VEc8 is more effective in the treatment of intestinal escherichiosis in comparison with the use of effective in vitro antibiotics. Bacteriophage VEc8 can be considered as a promising drug for the prevention and treatment of escherichiosis infection in humans.

Key words: *Escherichia coli*, experimental escherichiosis, sepsis, intestinal infection, mouse model, phage therapy, antibiotic therapy

For citation: Borzilov A.I., Korobova O.V., Kombarova T.I., Denisenko E.A., Verevkin V.V., Ganina E.A., Volozhantsev N.V. Phage therapy efficiency of experimental escherichiosis infection in mice. *Bacteriology*. 2021; 6(2): 8–22. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2021-2-8-22

E*scherichia coli* – грамотрицательные палочки средних размеров с закругленными концами, факультативные анаэробы. Они обладают подвижностью благодаря перитрихально расположенным жгутикам, многие штаммы имеют микрокапсулу. Растут на обычных питательных средах, выделяют бактерицидные вещества – колицины.

Эшерихии содержат соматические (O), капсульные (K) и жгутиковые (H) антигены. Обнаружено 173 варианта соматического O-антигена, 97 разновидностей K-антигена, 57 вариантов H-антигена. Количество возможных комбинаций этих антигенов превышает 2000 [1].

E. coli делятся на непатогенные (резидентные) и патогенные (экзогенного происхождения), а также на возбудителей парентеральных и энтеральных инфекций. Непатогенные кишечные палочки относятся к нормальной микрофлоре кишечника человека. К возбудителям парентеральных эшерихиозов относятся уропатогенные *E. coli* (UPEC) и *E. coli*, вызывающие менингиты новорожденных (NMEC) [1]. Диареогенные эшерихии (DEC) относятся к энтеральным патогенам. В соответствии с систематикой Всемирной организации здравоохранения DEC-штаммы делят на пять патогенетических групп: энтеропатогенные (EPEC), энтеротоксигенные (ETEC), энтерогеморрагические (EHEC), энтероинвазивные (EIEC), энтероаггративные (EAgEC). Перечисленные группы эшерихий вызывают разные формы острой кишечной инфекции.

Среди всех патогенных кишечных палочек энтеротоксигенные *E. coli* являются наиболее распространенными возбудителями диареи человека в разных странах мира: в год регистрируется более 650 млн случаев энтеротоксигенных инфекций, среди которых 800 тыс. случаев заканчиваются смертью [2, 3].

ЕHEC чаще всего относятся к серогруппам O26, O45, O55, O91, O103, O104, O111, O113, O121, O145 и O157. В геномах ЕHEC имеются гены патогенности: *rfb*, *eae*, *stx1*, *stx2*, *ehx*, кодирующие соответственно специфические липополисахариды, основной ген адгезии – интимин, шига-токсины 1-го и/или 2-го типов и энтерогемолизин [4, 5]. *E. coli* группы ЕHEC вызывают диарею, кровавую диарею и колит, которые проходят без лечения в большинстве случаев. Однако примерно у 5–10% пациентов (в основном детей) развивается гемоли-

тико-уремический синдром (ГУС), характеризующийся тромбоцитопенией, микроангиопатической гемолитической анемией и острой почечной недостаточностью. Уровень смертности у пациентов с ГУС достигает 25% [6, 7]. Известно, что при заболеваниях, вызванных штаммами, продуцирующими токсин Stx2, осложнения в виде ГУС возникали в 7 раз чаще, чем при инфекциях, вызванных штаммами, продуцирующими токсин Stx1 или оба токсина [8].

Штаммы кишечной палочки серотипа O157:H7 вызывают большинство инфекций ЕHEC во всем мире [9]. В последние годы выявляются гибридные патотипы диареогенных эшерихий – энтероаггративные геморрагические *E. coli* (EAHEC) и шига-токсин продуцирующие энтеротоксигенные *E. coli* (STEC/ETEC) [8, 10].

В 2011 г. в Европе произошла массовая вспышка кишечной инфекции, вызванная новым редким серотипом *E. coli* O104:H4 [11]. Этот штамм является гибридом STEC и EAHEC кишечной палочки. Он продуцирует шига-токсин 2-го типа (Stx2) и факторы адгезии эшерихий группы EAHEC [12–14]. Геномное секвенирование показало, что штамм O104:H4 приобрел ген *stx2* [15], а также имеет локус, ассоциированный с множественной резистентностью к антимикробным препаратам [16]. Усиленная адгезия этого штамма к эпителию кишечника способствует системному всасыванию шига-токсина, что, вероятно, и вызывает высокую частоту ГУС [12].

С каждым годом увеличивается количество клинических изолятов кишечной палочки, обладающих устойчивостью к различным антибиотикам [17, 18]. Показано, что штаммы *E. coli* могут продуцировать β-лактамазы с расширенным спектром действия [19]. Имеются сообщения о резистентности штаммов *E. coli* к хинолонам/фторхинолонам (налидиксовая кислота, цiproфлоксацин, левофлоксацин, моксифлоксацин, норфлоксацин) [20]. Некоторые авторы [21] обнаружили, что до 30% штаммов *E. coli*, выделенных из кишечника людей, высокоустойчивы к ампициллину, тетрациклину, стрептомицину, цiproфлоксацину и ко-тримоксазолу, но менее устойчивы к гентамицину и хлорамфениколу. В других исследованиях было показано, что среди штаммов кишечной палочки, выделенных от пациентов в отделении интенсивной терапии, 20% были устойчивы к цефазолину, 0,7% – к цефепиму, 3,7% – к цефтриаксону,

3% – к гентамицину, 21,1% – к фторхинолонам, 1,9% – к пиперациллин-тазобактаму и 24,8% – к триметоприм-сульфаметоксазолу [22].

Гены устойчивости к антибиотикам могут располагаться в транспозонах, интегронах и плаزمиде, которые способны к внутривидовой и межвидовой передаче [23, 24], в том числе и в микробиоме человека [25].

Антибактериальную терапию эшерихиозов, как правило, начинают через 2–3 дня после начала лечения энтеросорбентами и регидрантами. Наиболее часто применяемые антибиотики – нитрофураны (нифуроксазид, нифурател), аминогликозиды (гентамицин, амикацин), цефалоспорины (цефиксим, цефотаксим) и налидиксовая кислота [26–28].

Лечение инфекций, вызванных шигатоксин-продуцирующими *E. coli*, в основном поддерживающее, без этиотропной терапии [29]. В STEC гены *stx* находятся в геномах профагов, интегрированных в бактериальной хромосоме [30]. Активация фагового литического цикла может происходить с помощью широкого ряда соединений (включая некоторые антибиотики), индуцирующих выработку Stx, который выделяется при лизисе бактериальных клеток в начале литической фазы фага [31]. Лекарства, обычно используемые в клинике для лечения бактериальных инфекций, такие как антибиотики, противопоказаны и даже рассматриваются как факторы риска развития ГЧС [32].

Шигаподобный токсин Stx2a, инактивирующий рибосомы, высвобождается в везикулах наружной мембраны во время роста клеток [33–35]. Ципрофлоксацин, меропенем, фосфомицин и полимиксин В значительно увеличивают образование везикул наружных мембран в клетках *E. coli* O104:H4 и O157:H7. Ципрофлоксацин также повышает количество Stx2a, связанного с везикулами, тогда как другие антибиотики увеличивают производство везикул без токсина. Эти два эффекта могут ухудшить клинический исход инфекций, вызванных шигаподобными токсинами, продуцируемыми *E. coli*. Существуют рекомендации избегать применения антибиотиков для лечения этих инфекций [36]. Если антибиотикотерапия ЕНЕС-инфицированных пациентов неизбежна, то возможно применение препаратов, не увеличивающих токсичность штаммов-возбудителей *E. coli* O104:H4 и O157:H7, таких как гентамицин, рифаксимин, тигециклин, азитромицин и хлорамфеникол [12]. Значительное снижение токсичности у обоих штаммов было выявлено при применении хлорамфеникола [36]. Для лечения инфекций STEC перспективны применение вакцин, ингибиторы токсинов и иммунотерапия [37].

В настоящее время проводятся исследования по поиску специфических бактериофагов (автономно или в составе коктейлей) для лечения экспериментальной эшерихиозной инфекции у лабораторных животных [38, 39]. В случае энтеральной инфекции использование литических фагов позволяет элиминировать патогенные *E. coli* из кишечника без изменения профиля его микробиоты [40].

Ведутся исследования по разработке эффективных вакцин против эшерихиозов, вызываемых ЕНЕС-штаммами [41, 42].

Для оценки эффективности различных антибактериальных препаратов и вакцин необходимы охарактеризованные модели экспериментальных инфекций, в том числе и эшерихиозов.

В зависимости от целей исследования могут быть использованы летальные и нелетальные модели инвазивных и неинвазивных инфекций, вызываемых штаммами кишечной палочки.

Наиболее популярная мышинная модель кишечной инфекции, вызываемой ЕНЕС-штаммом, была предложена E.A.Wadolkowski et al. [43]. Эта колонизационная модель заключалась во внутрижелудочном заражении (10^{10} КОЕ *E. coli* O157:H7) самок мышей линии BALB/c после пятидневного назначения мышам 0,5%-го раствора стрептомицина с питьевой водой. В результате подавления нормальной кишечной микрофлоры животные становятся восприимчивыми к заражению культурой ЕНЕС. В дальнейшем ведут контроль клеток патогена в фекалиях зараженных мышей. Ранее похожую модель описал M.L.Muhal [44], но в ней были использованы самцы аутбредных мышей CD-1, а инфицирующая доза кишечной палочки O157:H7 составляла 10^{10} КОЕ.

Похожую модель эшерихиозной кишечной инфекции, но с использованием мышей линии C57BL/6, применяли для изучения транскрипции белков TJ. Животным с подавленной микрофлорой кишечника вводили *E. coli* O157:H7 в меньшей дозе – 2×10^8 КОЕ [45].

Кишечную модель эшерихиоза с длительной персистенцией *E. coli* O157:H7 моделируют также на мышах BALB/c с неизменной микрофлорой кишечника [46]. Для этого животным перорально вводят культуру ЕНЕС-штамма в количестве 10^9 КОЕ. В результате бактерии *E. coli* O157:H7 выделяются с фекалиями в течение недели в большом количестве (10^9 КОЕ), а 30% мышей теряют в весе.

Y.Chong et al. [47] использовали мышей линии C3H/HeN для внутрижелудочного заражения различными вариантами штамма *E. coli* O157:H7 с целью выявления в них шига-токсина (Stx2), интимина и системы III типа секреции. Заражающая доза составляла 10^9 КОЕ. У животных отмечали изменения общего состояния, внешние признаки интоксикации и изменения в кишечнике.

Способность штаммов кишечной палочки колонизовать мочевыводящие пути оценивают на мышинной модели. Мышей линии C3H/HeN или CBA/J заражают с помощью мочевого катетера культурой кишечной палочки в дозе 1×10^4 КОЕ или 1×10^8 КОЕ соответственно. Через сутки оценивают обсемененность клетками патогена мочевых пузырей [48–50].

Интересный подход при изучении патогенных свойств штамма кишечной палочки, выделенной из спинномозговой жидкости ребенка, использовали Thewaini et al. [51]. Они воспроизводили менингит у мышей, вводя культуру штамма *E. coli* CSF в дозе 105 КОЕ различными путями: *per os*, внутрибрюшинно и внутривенно.

Нередко оценку вирулентности изолятов *E. coli*, вызывающих у новорожденных менингит, сепсис и инфекции мочевыводящих путей, проводят на мышах линии BALB/c, заражая их внутрибрюшинно в дозе 10^8 КОЕ, или на пятидневных крысах, инфицируя их внутрибрюшинно в дозе 10^2 КОЕ. Тяжесть инфекции оценивают по общему состоянию животных и смертности [50–52].

Разработка модели экспериментальной эшерихиозной инфекции предполагает поиск штаммов кишечной палочки, способных приживаться в органах и тканях макроорганизма,

вызывать в нем инфекционный процесс и приводить к гибели модельных животных. Кроме того, важно выбрать вид лабораторных животных, максимально чувствительных к эшерихиозной инфекции. Для моделирования летальной или нелетальной инфекции необходимо установить оптимальную заражающую дозу патогена. Использование слишком высоких заражающих доз может приводить к стремительной гибели животных от инфекции или от токсического шока в случае применения эффективных антибактериальных препаратов. Нередко для снижения заражающей дозы бактериальных агентов используют животных с индуцированным иммунодефицитом. Различные кишечные инфекции воспроизводят на животных с искусственным дисбиозом кишечника.

В наших исследованиях мы разработали модели летальной и нелетальной эшерихиозной инфекции у мышей, пригодные для оценки *in vivo* эффективности различных антимикробных препаратов. В качестве возбудителя инфекции использовали клинический штамм кишечной палочки.

Цель работы – изучение эффективности фаготерапии и антибиотикотерапии на примере лечения двух моделей эшерихиозной инфекции у мышей, вызываемых штаммом *E. coli* 3421E/19.

Материалы и методы

Бактериальные культуры

Для моделирования экспериментальной эшерихиозной инфекции использовали штамм *E. coli* 3421E/19 (кат. №В-8871) из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболensk». Штамм 3421E/19 (серотип O18) принадлежит к группе NMES – возбудителей парентеральных инфекций. Используемая нами культура кишечной палочки не продуцирует шига-токсин. Бактерии *E. coli* 3421E/19 чувствительны к цефтазидиму (минимальная подавляющая концентрация (МПК) <0,25 мкг/мл), амикацину (МПК 8 мкг/мл), ко-тримоксазолу (МПК 10/2 мкг/мл), но устойчивы к тетрациклину (МПК >200 мкг/мл).

Питательные среды, антибиотики

Плотную питательную среду №1 ГРМ производства ФБУН ГНЦ ПМБ (Россия) применяли для культивирования кишечной палочки. В качестве селективной среды для выявления клеток *E. coli* 3421E/19 в фекалиях мышей использовали агар Эндо-ГРМ (ФБУН ГНЦ ПМБ) с добавлением тетрациклина (20 мкг/мл).

В качестве антибиотиков для лечения экспериментального эшерихиоза использовали амикацин (ОАО «КРАСФАРМ», Россия), цефтазидим (Glaxo Wellcome S.p.a., Италия) и ко-тримоксазол (Biocraft, США). Тетрациклина гидрохлорид (ООО «НПК «Асконт», Россия) применяли в качестве селективной добавки для питательных сред. Клинадамицин (Hetofarm A.D., Сербия) назначали животным для провоцирования дисбиоза кишечника.

Выделение бактериофага VЕс8

Для наработки бактериофага VЕс8 использовали штамм *E. coli* K12 С600 (r-m-), геном которого не содержит факторов патогенности и профагов. Это позволило применять для терапии фаголизат без дополнительной очистки.

Бактериальную культуру С600 выращивали в жидкой питательной среде в течение ночи при температуре 37°C без аэрации до концентрации 10⁹ КОЕ/мл. Выросшую культуру разводили в 5 раз жидкой питательной средой LBM, содержащей 10 мМ магния сульфата (MgSO₄) в среде LB, и заражали бактериофагом VЕс8 с множественностью инфицирования (МИ) 0,01–0,1 БОЕ/КОЕ. Смесь инкубировали при температуре 37°C при аэрации (качалка, скорость вращения 170 об./мин) до просветления культуры (обычно от 2 до 3,5 ч). Фаголизат стерилизовали добавлением 1% хлороформа (v/v) с последующим интенсивным перемешиванием в течение 20 мин. Клеточный дебрис удаляли низкоскоростным центрифугированием при скорости вращения 10000 об./мин в течение 10 мин, надосадочную жидкость отбирали в стерильную емкость. Количество фаговых частиц в фаголизате определяли методом Грациа, используя для этого штаммы *E. coli* С600 и вирулентный 3421E/19.

Выделенный бактериофаг не обладал токсическим действием для мышей при внутрибрюшинном введении в дозе 5 × 10⁸ БОЕ в 0,5 мл (данные не приводятся).

Лабораторные животные

В качестве модельных животных использовали мышей линий BALB/c и С57BL/6, выращенных в питомнике ФБУН ГНЦ ПМБ.

Эшерихиозный сепсис моделировали на мышам линии BALB/c с индуцированным иммунодефицитом. Иммуносупрессию у мышей вызывали внутрибрюшинным введением 5%-го муцина одновременно с культурой кишечной палочки.

Кишечную эшерихиозную инфекцию моделировали на мышам линии С57BL/6 с антибиотик-зависимым дисбиозом кишечника.

Модельных животных содержали в стандартных условиях в соответствии с международными нормами и требованиями. Мыши имели свободный доступ к воде и корму (ООО «Лабораторкорм», Москва).

Мышей размещали в поликарбонатных клетках Lab Products Inc. (США) группами не более шести животных в каждой и проводили за ними ежедневное ветеринарное наблюдение. Умерших в процессе эксперимента мышей удаляли из клеток по мере обнаружения.

Моделирование дисбактериоза кишечника у мышей

Для санации кишечника подопытным мышам за сутки до заражения подкожно вводили клиндамицин в количестве 400 мг/кг. Этот антибиотик вызывает дисбиоз у лабораторных животных, критически изменяя состав нормальной микрофлоры кишечника и делая его восприимчивым к инфицированию условно-патогенными микроорганизмами [53, 54].

Моделирование летального сепсиса

Исходную суспензию клеток *E. coli* 3421E/19 готовили из 16-часовой агаровой культуры, суспендированной в физиологическом растворе до мутности, эквивалентной 3,4 по стандарту МакФарланда, что соответствует 1 × 10⁹ КОЕ/мл. Бактериальную взвесь для заражения мышей готовили методом серийных разведений культуры *E. coli* до концентрации 3 × 10³ КОЕ/мл в 2,5%-м муцине с физиологическим

раствором. Контроль количества клеток во взвеси осуществляли путем высева по 0,1 мл из соответствующего разведения исходной взвеси на плотную питательную среду №1 ГРМ. Посевы инкубировали в течение 24 ч при температуре 37°C. 0,5 мл приготовленной взвеси вводили мышам линии BALB/c внутрибрюшинно с использованием инсулинового шприца с иглой диаметром G26-28. Заражающая доза составляла $1,5 \times 10^3$ КОЕ (100 ЛД50).

Моделирование кишечной инфекции

Взвесь клеток *E. coli* 3421E/19 для внутрижелудочного введения готовили из агаровой культуры, суспендированной в физиологическом растворе до мутности 5,2 по стандарту МакФарланда ($\approx 2 \times 10^9$ КОЕ/мл). Количество клеток во взвеси контролировали методом, описанном выше. 0,5 мл приготовленной взвеси (1×10^9 КОЕ) кишечной палочки вводили мышам с индуцированным дисбиозом кишечника внутрижелудочно с помощью металлического зонда (Stanford Equipment Company, США) соответствующего размера. За 2 ч до проведения процедуры у животных отбирали корм.

Изучение динамики развития первичного эшерихиозного сепсиса

Развитие генерализованной инфекции, вызываемой культурой штамма *E. coli* 3421E/19, изучали на мышах линии BALB/c (самцы/самки, вес 20–24 г). Животных инфицировали внутрибрюшинно дозой $1,5 \times 10^3$ КОЕ (100 ЛД50) с муцином. Предварительно было установлено, что все зараженные этой дозой мыши умирают в течение суток. Через 1,5; 3; 6 и 12 ч после заражения по 5 животных эвтаназировали методом декапитации, а образцы крови, селезенки, печени и головного мозга исследовали количественно на содержание в них клеток патогена.

Изучение динамики развития кишечной эшерихиозной инфекции

Динамику развития кишечной формы эшерихиоза исследовали на мышах линии C57Bl/6 (самцы/самки, вес 18–24 г) с индуцированным дисбиозом кишечника. Животных заражали культурой *E. coli* 3421E/19 внутрижелудочно в дозе 10^9 КОЕ. На 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 и 14-е сутки от каждой экспериментальной группы (5 голов) пулом отбирали фекалии для бактериологического анализа.

Бактериологический анализ биологических образцов

После эвтаназии мышей вскрывали для получения образцов органов и крови (из сердца). Селезенку и головной мозг перетирали в стерильных фарфоровых ступках с добавлением кварцевого песка. В гомогенаты добавляли стерильный физиологический раствор (1 мл) и перемешивали до получения однородной массы. Полученные суспензии (цельные и их десятикратные разведения) высевали на поверхность питательного агара. В качестве питательной среды для выявления культуры кишечной палочки использовали агар Эндо-ГРМ с добавлением 20 мкг/мл тетрациклина. Посевы инкубировали при температуре 37°C в течение 18–24 ч.

Сбор и бактериологический анализ каловых масс от мышей

Мышей (5 особей) из клетки содержания пересаживали в стерильные клетки без подстилки, но с кормом и водой. Через 30–40 мин после пересадки животных возвращали в клетки для содержания. По 200–300 мг фекалий растирали в ступках пестиками, затем образцы гомогенизировали в физиологическом растворе (0,85%-й хлорид натрия), титровали до необходимых разведений и высевали на поверхность плотной питательной среды Эндо-ГРМ с добавлением тетрациклина гидрохлорида. Посевы инкубировали в течение 24 ч при температуре $36 \pm 1^\circ\text{C}$. Использованный в работе штамм кишечной палочки устойчив к тетрациклину, в отличие от штаммов, входящих в состав нормальной микрофлоры кишечника мышей.

Гистологическое исследование органов и тканей

Гистологическое исследование проводили через 12 ч после внутрибрюшинного заражения (на пике сепсиса) мышей культурой *E. coli* 3421E/19 с муцином в дозе 100 ЛД50. В качестве контролей были использованы мыши, получавшие только муцин, только культуру и интактные животные. После эвтаназии у животных иссекали печень, селезенку и головной мозг. Полученные образцы помещали во флакон с 50 мл 4%-го раствора параформа. Через 24 ч экспозиции раствор параформа заменяли свежей порцией. Исследованию подвергали гистологические срезы органов, окрашенные гематоксилином и эозином по стандартной методике. Определяли наличие признаков воспалительно-некротических изменений в исследуемых образцах.

Антибиотикотерапия летальной эшерихиозной инфекции

Летальный сепсис воспроизводили на 30 мышах (самцы/самки) линии BALB/c весом 20–23 г. Животных инфицировали бактериальной взвесью *E. coli* 3421E/19 в дозе 100 ЛД50. Инфицированных животных случайным образом разделяли на три равноценные группы. Животные из первой группы получали ко-тримоксазол внутрижелудочно по 170 мг/кг дважды в сутки в течение 5 дней. Вторую группу мышей лечили цефтазидимом (подкожно 250 мг/кг, 2 раза в день, 5 дней). Терапию в обоих случаях начинали через 3 ч после заражения. Контрольная группа мышей оставалась без лечения. За животными наблюдали в течение 10 дней, отмечая случаи их гибели. Затем мышей эвтаназировали, а их селезенку, головной мозг и кровь исследовали на наличие клеток патогена. Эффективность лечения оценивали по количеству выживших животных и эффективности санации организма от *E. coli* 3421E/19.

Фаготерапия летальной эшерихиозной инфекции

В экспериментах по профилактике и лечению летальной эшерихиозной инфекции использовали бактериофаг VEс8, который *in vitro* лизирует клетки штамма *E. coli* 3421E/19. Летальную форму эшерихиозной инфекции моделировали как описано выше. Лечебную эффективность бактериофага VEс8 изучали на двух экспериментальных и одной контрольной группах животных, каждая из которых включала 10 особей. Мышей линии BALB/c (самцы, вес 19–21 г) заражали внутрибрюшинно летальной дозой кишечной па-

лочки и начинали лечить в соответствии с выбранной схемой. Препарат фага вводили внутривентриально в объеме 0,5 мл, содержащем около 5×10^8 бляшкообразующих единиц (БОЕ). Животным из группы 1 препараты бактериофагов вводили однократно за 1 ч до заражения (режим профилактики). Фаготерапию экспериментальной группы 2 начинали через 1,5 ч после инфицирования (режим лечения). Препарат назначали 2 раза в сутки в течение 3 дней. Контрольную группу инфицированных животных (группа 3) бактериофагом не лечили. За мышами из лечебных и контрольной групп наблюдали на протяжении курса фаготерапии и последующие 7 дней, регистрируя их гибель. В конце эксперимента выживших животных эвтаназировали, вскрывали и проводили бактериологический анализ образцов селезенки, крови и головного мозга с целью выявления клеток патогена.

Фаго- и антибиотикотерапия кишечной инфекции

Эффективность фаго- и антибиотикотерапии кишечной эшерихиозной инфекции проводили на мышах линии C57BL/6 (самцы/самки, вес $20,6 \pm 2$ г) с индуцированным дисбиозом кишечника. Для профилактики и лечения экспериментального эшерихиоза использовали бактериофаг VЕс8 и эффективные *in vitro* антибиотики амикацин и котримоксазол.

Подопытных животных случайным образом делили на группы по 10 особей в каждой и заражали внутрижелудочно *E. coli* 3421E/19 в дозе 10^9 КОЕ. В режиме профилактики бактериофаг VЕс8 вводили мышам однократно за час до заражения внутрижелудочно (группа 1) или внутривентриально (группа 2). Мышам из 3-й и 4-й экспериментальных групп фаг VЕс8 назначали 1 раз в сутки внутрижелудочно или внутривентриально соответственно, через сутки после заражения (режим лечения). Продолжительность курса фаготерапии – 5 дней. Разовая доза фага составляла 10^9 БОЕ. Животным из группы 5 давали внутрижелудочно ко-тримоксазол (разовая доза по сульфаметоксазолу 350 мг/кг) дважды в сутки в течение 5 дней. Антибиотикотерапию начинали через 24 ч после инфицирования. Мыши из контрольной группы 6 не получали антибактериальных препаратов.

В течение пяти дней ежедневно, а затем на 7, 9, 12 и 14-е сутки после заражения в фекалиях животных определяли количество клеток *E. coli* 3421E/19 и фаговых частиц VЕс8. Фекалии отбирали двумя пулами от 5 мышей.

Статистические методы

Статистическую обработку результатов (вычисление средних арифметических значений и стандартного отклонения) проводили с использованием статистических ресурсов программы Microsoft Excel 2010 и статистической программы Statistica 10.

Результаты и обсуждение

Модель летального эшерихиозного сепсиса у мышей

Внутрибрюшинное введение мышам линии BALB/c культуры штамма *E. coli* 3421E/19 вызывало быструю генерализацию эшерихиозной инфекции. Через 1,5 ч после заражения бактерии кишечной палочки колонизировали селезенку

Таблица 1. Динамика колонизации клетками *E. coli* 3421E/19 организма мышей линии BALB/c после внутривентриального заражения в дозе 100 ЛД50

Время после заражения, ч	LOG ₁₀ КОЕ/г (мл) <i>E. coli</i> 3421E/19			
	Среднее значение и стандартное отклонение (n = 5)			
	Селезенка	Печень	Головной мозг	Кровь
1,5	2,42 ± 0,54 (4/5)	2,32 ± 0,09 (4/5)	<1 (5/5)	1,49 ± 0,28 (4/5)
3	4,11 ± 0,16 (5/5)	3,53 ± 0,29 (5/5)	2,62 ± 0,10 (5/5)	3,09 ± 0,43 (5/5)
6	6,20 ± 0,28 (5/5)	6,04 ± 0,33 (5/5)	5,18 ± 0,69 (5/5)	4,65 ± 1,16 (5/5)
12	6,62 ± 0,14 (5/5)	6,46 ± 0,15 (5/5)	5,42 ± 0,15 (5/5)	5,82 ± 0,06 (5/5)

В скобках указано соотношение мышей с положительным бактериологическим высевом к общему количеству животных в группе.

(2,42 LOG₁₀ КОЕ/г) и печень (2,32 LOG₁₀ КОЕ/г) у 4 из 5 инфицированных животных. У мышей наблюдалась достаточно высокая бактериемия (3,4 LOG₁₀ КОЕ/мл). Следует отметить, что у всех мышей кишечная палочка отсутствовала в головном мозге (табл. 1). Через 3 ч после инфицирования эшерихиозный сепсис наблюдался у всех животных (рис. 1). Среднее количество кишечной палочки в это время в селезенке, печени и крови увеличивалось более чем на порядок. Содержание патогена в них составило 6,46; 5,42 и 3,09 LOG₁₀ КОЕ/г соответственно. Головной мозг был обсеменен клетками *E. coli* 3421E/19 у 100% животных. Концентрация кишечной палочки в тканях головного мозга достигала 2,62 LOG₁₀ КОЕ/г.

Максимальная обсемененность организма мышей кишечной палочкой была зафиксирована через 12 ч после заражения. Концентрация клеток *E. coli* 3421E/19 в селезенке, печени, головном мозге и крови мышей увеличивалась до 6,62;

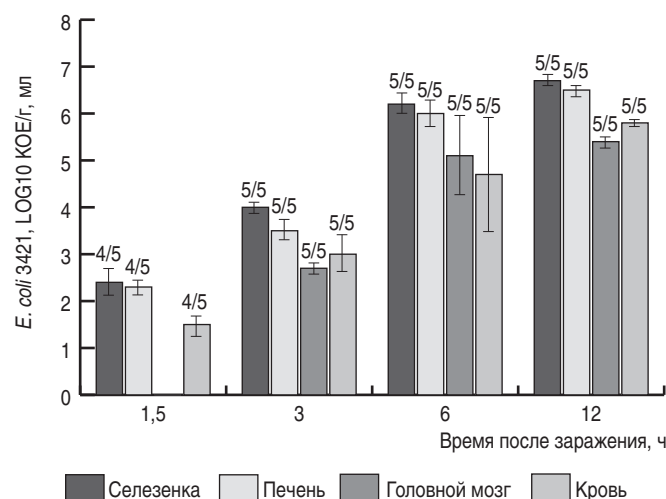


Рис. 1. Динамика колонизации клетками *E. coli* 3421E/19 селезенки, печени, головного мозга и крови иммунодепрессивных мышей линии BALB/c после внутривентриального заражения в дозе 100 ЛД50 с муцином.

На диаграмме представлены средние значения и стандартные отклонения количества клеток кишечной палочки. В дробях указано количество животных с положительным бактериологическим высевом по отношению к количеству животных в группе.

6,46; 5,42 и 5,82 LOG₁₀ КОЕ/г соответственно. Бактериemia у инфицированных мышей также нарастала и к 12 ч достигала в среднем 5,82 LOG₁₀ КОЕ/мл.

Таким образом, бактерии *E. coli* 3421E/19, введенные внутривентриально мышам линии BALB/c в дозе 100 ЛД₅₀, быстро распространяются в организме мышей, поражая паренхиматозные органы брюшной полости и головной мозг.

Гематологический анализ крови мышей, зараженных культурой штамма *E. coli* 3421E/19, показал достоверное ($p < 0,01$) снижение количества лейкоцитов (до $2,6 \times 10^9/л$), а также значительное снижение относительного содержания лимфоцитов ($1,6 \times 10^9/л$) и гранулоцитов ($1,0 \times 10^9/л$). Подобные изменения в формуле крови говорят о развитии выраженного инфекционного процесса, связанного с эшерихиозным сепсисом. У контрольных животных содержание лейкоцитов, лимфоцитов, моноцитов и гранулоцитов составляло $5,1 \times 10^9/л$, $2,7 \times 10^9/л$, $0,2 \times 10^9/мл$, $2,2 \times 10^9/л$ соответственно.

В результате гистологических исследований было установлено, что муцин при внутривентриальном введении мышам линии BALB/c вызывает морфологические изменения в тканях организма, что выражается в уменьшении количества рециркулирующих лимфоцитов в лимфоидных органах (селезенке и лимфатических узлах). Внутривентриальное введение мышам культуры *E. coli* 342E/19 с муцином вызывает резкое уменьшение площади белой пульпы селезенки, по сравнению с действием одного муцина. При этом культура кишечной палочки стимулирует появление в красной пульпе селезенки большого количества клеток, характерных для воспалительного процесса, – полиморфноядерных лейкоцитов разной степени зрелости, а также иммунокомпетентных клеток – малых и больших лимфоцитов. Через 12 ч после заражения подопытных животных происходит лизис гепатоцитов с образованием обширных очагов некроза в паренхиме.

Эффективность фаго- и антибиотикотерапии эшерихиозного сепсиса

Разработанная нами модель летального эшерихиозного сепсиса, вызываемого *E. coli* 3421E/19, была использована для оценки терапевтической эффективности эшерихиозного бактериофага VЕс8 и антибиотиков ко-тримоксазола и цефтазидима. Активность фага *in vivo* оценивали в экспериментах по его профилактике и лечению. Критериями эффективности фаготерапии и антибиотикотерапии служили выживаемость инфицированных животных и остаточная обсемененность органов клетками кишечной палочки на 10–14-е сутки после заражения.

В результате проведенных исследований было установлено, что бактериофаг VЕс8 обладает высокой профилактической и лечебной эффективностью при лечении летальной эшерихиозной инфекции. Все инфицированные мыши, получавшие внутривентриально фаг VЕс8 (5×10^8 БОЕ) однократно за 1 ч до заражения или в течение 3 суток (через 1,5 ч после заражения, два раза в сутки), оставались живыми в течение 10 дней после заражения. В крови, селезенке и головном мозге выживших животных из лечебных групп культура штамма 3421E/19 не была выявлена, что свидетельствует о полной элиминации возбудителя из организма животных.

У мышей, получавших препарат бактериофага, в течение всего срока наблюдения признаков инфекционного заболевания или интоксикации не отмечалось. Животные теряли в весе в течение первых суток инфекции, а затем их масса тела постепенно восстанавливалась.

В то же время 100% мышей из контрольной группы пали в течение суток после инфицирования. При посеве мазками-отпечатками органов павших мышей культура *E. coli* 3421E/19 высевалась в виде газона из селезенки, головного мозга и крови.

Эксперименты по антибиотикотерапии летального эшерихиоза, вызванного *E. coli* 3421E/19, показали, что пятидневный курс применения ко-тримоксазола или цефтазидима приводит к положительному лечебному результату: 100% инфицированных мышей из экспериментальных групп оставались живыми в течение 14 суток. Культура патогена отсутствовала в селезенке, головном мозге и крови всех выживших животных. В контрольной группе наблюдался падеж 100% мышей в течение первых суток инфекции. Бактерии *E. coli* 3421E/19 были выделены от всех павших мышей.

Разработанная нами модель летальной эшерихиозной генерализованной инфекции, вызываемой внутривентриальным введением 100 среднелетальных доз *E. coli* 3421E/19, поддается лечению антибиотиками, активными *in vitro* против этого патогена. Таким образом, эта модель может быть использована для оценки терапевтической эффективности других антибактериальных препаратов, направленных против кишечной палочки.

В экспериментах по профилактике и лечению генерализованной летальной эшерихиозной инфекции установлено, что бактериофаг VЕс8 по своей лечебной активности не уступает антибиотикам цефтазидиму и ко-тримоксазолу.

Модель кишечной эшерихиозной инфекции у мышей

Внутрижелудочное введение мышам линии С57BL/6 с антибиотик-зависимым дисбиозом кишечника культуры *E. coli* 3421E/19 приводит к устойчивой колонизации кишечника клетками патогена, но не вызывает видимых признаков инфекции и гибели модельных животных. Следует отметить, что у мышей, получавших клиндамицин для подавления нормофлоры кишечника, среднее содержание клеток *E. coli* 3421E/19 в фекалиях на 2–5 порядков превышало их содержание в фекалиях мышей с нормальной микрофлорой (табл. 2). В течение 3 суток после заражения концентрация клеток штамма 3421E/19 в фекалиях мышей с дисбиозом держалась на уровне 9,59–9,66 LOG₁₀ КОЕ/г, у контрольных мышей (без дисбиоза) – в пределах 6,62–4,98 LOG₁₀ КОЕ/г.

Более длительное (в течение 14 суток) наблюдение за мышами выявило, что у мышей, обработанных клиндамицином, обсемененность фекалий клетками штамма 3421E/19 постепенно падает с 9,45 до 5,22 LOG₁₀ КОЕ/г. В то же время у мышей с нормальной микрофлорой кишечника уже на 4-е сутки эшерихиозной инфекции культура патогена отсутствовала в мышиных фекалиях (рис. 2).

Кроме того, в ходе изучения модели эшерихиозной кишечной инфекции была выявлена способность клеток патогена к инвазии. Так, например, в течение 3 дней инфекции клетки *E. coli* 3421E/19 были выявлены у 20 и 60% мышей в селезенке и головном мозге соответственно. Бактериemia

Таблица 2. Обсемененность органов и фекалий мышей линии C57BL/6 клетками *E. coli* 3421 E/19 при внутрижелудочном заражении культурами в дозе 10⁹ КОЕ

Штамм <i>E. coli</i>	Клиндамицин	LOG ₁₀ КОЕ/г (мл) клеток <i>E. coli</i> . Среднее значение и стандартное отклонение (n = 5)			
		Селезенка	Головной мозг	Кровь	Фекалии
1-е сутки после заражения					
3421E/19	+	2,26 (1/5)	2,11 ± 1,13 (3/5)	2,69 ± 2,22 (2/5)	9,66
3421E/19	-	0 (5/5)	0 (5/5)	0 (5/5)	6,62
2-е сутки после заражения					
3421E/19	+	0 (5/5)	2,54 (1/5)	1,59 (1/5)	9,73
3421E/19	-	0 (5/5)	0 (5/5)	0 (5/5)	6,27
3-и сутки после заражения					
3421E/19	+	2,90 (1/5)	2,59 ± 1,01 (3/5)	0 (5/5)	9,59
3421E/19	-	0 (5/5)	0 (5/5)	0 (5/5)	4,98

В скобках указано соотношение мышей с положительным бактериологическим высевом к общему количеству животных в группе.

наблюдалась у 3 из 5 мышей, но только в первые 2 дня после заражения. Максимальные концентрации клеток *E. coli* 3421E/19 в селезенке, головном мозге и крови составляли 2,9 LOG₁₀ КОЕ/г, 2,59 LOG₁₀ КОЕ/г и 2,69 LOG₁₀ КОЕ/мл. Диссеминация клеток *E. coli* 3421E/19 не наблюдалась у мышей с неизменной микрофлорой кишечника.

Эффективность фаго- и антибиотикотерапии эшерихиозной кишечной инфекции у мышей

Модель кишечной эшерихиозной инфекции у мышей была использована в экспериментах по оценке терапевтической активности бактериофага VЕс8 в сравнении с антибиотиком ко-тримоксазолом. В качестве модельных животных использовали мышей линии C57BL/6 (самцы/самки, вес 20,6 ± 2 г) с антибиотик-обусловленным дисбиозом кишечника.

Результаты терапии экспериментальной эшерихиозной кишечной инфекции показали, что под воздействием бакте-

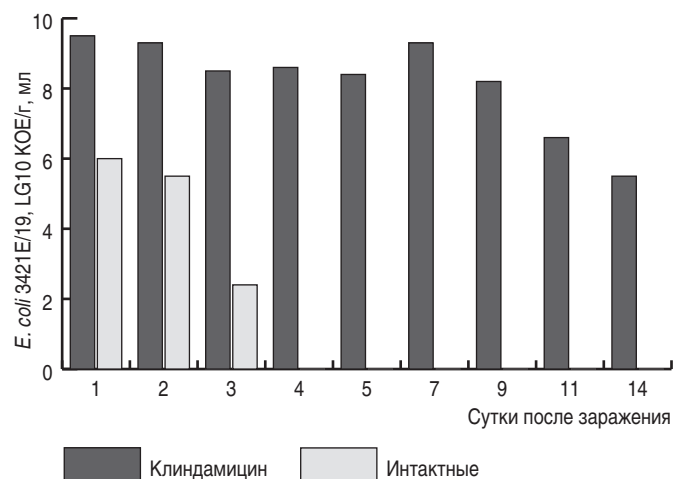


Рис. 2. Концентрация клеток *E. coli* 3421E/19 в фекалиях мышей линии BALB/c после внутрижелудочного заражения в дозе 1 × 10⁹ КОЕ.

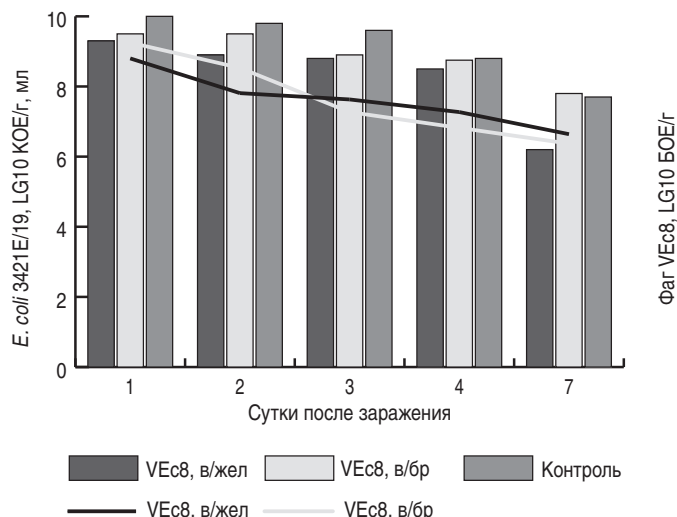


Рис. 3. Содержание клеток *E. coli* 3421E/19 в фекалиях мышей при фагопрофилактике экспериментальной кишечной инфекции.

Бактериофаг VЕс8 вводили однократно внутрижелудочно за 1 ч до заражения в количестве 10⁹ БОЕ. Столбцы показывают количество клеток кишечной палочки. Линиями обозначено количество фаговых частиц в фекалиях.

риофага может происходить статистически значимое снижение концентрации клеток *E. coli* 3421E/19 в фекалиях. Так, например, к 7-м суткам после заражения при однократном внутрижелудочном введении бактериофага VЕс8 за 1 ч до инфицирования (профилактика) количество клеток патогена в фекалиях снижалось с 10 до 6,23 LOG₁₀ КОЕ/г (табл. 3). В то же время у контрольных животных происходило независимое снижение содержания клеток *E. coli* 3421E/19 до уровня 7,77 LOG₁₀ КОЕ/г. Внутрибрюшинное назначение бактериофага практически не влияло на обсемененность фекалий бактериями клеток *E. coli* 3421E/19 по сравнению с нелеченым контролем.

Количество фаговых частиц VЕс8 в фекалиях мышей также снижалось в течение недели с 9,4–9,8 LOG₁₀ БОЕ/г (1-е сутки) до 6,82–6,5 LOG₁₀ БОЕ/г как при внутрижелудочном, так и при внутрибрюшинном способе применения препарата бактериофага (табл. 4). Полученные данные говорят о том, что фаги эффективно проникают в просвет кишечника после внутрибрюшинного введения. С другой стороны, мы не наблюдали эффекта размножения фагов в кишечнике мышей, несмотря на наличие чувствительной культуры *E. coli* 3421E/19 (рис. 3).

При длительном (в течение 5 дней) применении бактериофага VЕс8 наблюдался более выраженный терапевтический эффект (табл. 3). К 7-м суткам после заражения концентрация клеток *E. coli* 3421E/19 в фекалиях мышей, получавших фаг внутрижелудочно, составляла 4,21 LOG₁₀ КОЕ, тогда как у контрольных животных этот показатель был более чем на три порядка выше (7,77 LOG₁₀ КОЕ). Внутрибрюшинное введение бактериофага было менее эффективным и незначительно снижало обсемененность фекалий клетками патогена – до 6,23 LOG₁₀ КОЕ.

Динамика концентрации фаговых частиц VЕс8 в фекалиях мышей на протяжении фаготерапии была отрицательной при обоих путях введения фагового препарата (рис. 4).

Таблица 3. Обсемененность (LOG10 КОЕ/г) фекалий мышей клетками *E. coli* 3421E/19 в ходе фаго- и антибиотикотерапии экспериментальной эшерихиозной кишечной инфекции у мышей линии C57BL/6

Группы	Сутки после заражения				
	1	2	3	4	7
VEc8, в/жел, профилактика	9,30	8,99	8,95	8,41	6,16
VEc8, в/бр, профилактика	9,47	9,50	9,00	8,81	7,87
VEc8, в/жел, лечение	10,00	8,95	8,69	6,92	4,21
VEc8, в/бр, лечение	10,00	9,63	9,07	7,86	6,23
Ко-тримоксазол, в/жел	10,00	9,26	8,09	7,09	6,41
Контроль	10,00	9,71	9,50	8,86	7,77

Представлены средние значения обсемененности пула фекалий от 10 мышей.

Таблица 4. Обсемененность фекалий фаговыми частицами VEc8 (LOG10 БОЕ/г) в ходе фаготерапии экспериментальной эшерихиозной кишечной инфекции у мышей линии C57BL/6

Группы	Сутки после заражения				
	1	2	3	4	7
VEc8, в/жел., профилактика	9,40	8,12	7,81	7,40	6,82
VEc8, в/бр, профилактика	9,80	8,81	7,50	7,04	6,50
VEc8, в/жел, лечение	–	9,08	7,23	4,81	3,10
VEc8, в/бр, лечение	–	9,40	8,41	8,12	6,69
Контроль	–	–	–	–	–

Представлены средние значения обсемененности пула фекалий от 10 мышей.

Однако при внутрижелудочном применении эшерихиозного бактериофага его количество в фекалиях через 2 суток после последнего введения составляла 6,69 LOG10 КОЕ, а при внутрибрюшинном введении – только 3,1 LOG10 КОЕ (табл. 4).

Следует отметить, что конечный результат лечения экспериментальной эшерихиозной инфекции у мышей бактериофагом VEc8 был лучше, чем при антибиотикотерпии ко-тримоксазолом. Внутрижелудочное введение ко-тримоксазола дважды в сутки в течение 5 дней давало лишь небольшое (до 6,41 LOG10 КОЕ) снижение обсемененности фекалий клетками *E. coli* 3421E/19 по сравнению с нелеченым контролем (7,7 LOG10 КОЕ).

В ходе фаготерапии и антибиотикотерапии экспериментального кишечного эшерихиоза у мышей линии C57BL/6 состояние животных оставалось удовлетворительным. Признаки кишечной инфекции отсутствовали как у леченых, так и у контрольных животных. Мыши из экспериментальных и контрольной групп в течение срока наблюдения (7 суток) набирали в весе. Прибавка массы тела животных в группах фагопрофилактики составила 1,4–1,5 г, в группе фаготерапии 4 – 2,1 г, в группе антибиотикотерапии – 2,3 г. Контрольные животные поправились в среднем на 1,6 г. Наименьший привес отмечался в лечебной группе 3 (внутрибрюшинное введение бактериофага VEc8 в течение 3 дней) – 0,3 г. Следует отметить, что в начале эксперимента

среднегрупповые показатели веса мышей из лечебных групп достоверно не отличались от контроля ($p > 0,05$).

Для оценки лечебной эффективности литического бактериофага VEc8 были использованы две модели эшерихиозной инфекции у мышей, поскольку бактерии *E. coli* могут быть причиной различных нозологических форм инфекции у человека. Модель сепсиса, вызываемого у мышей линии BALB/c внутрибрюшинным введением культуры, приводит к быстрой генерализации инфекции и к гибели 100% животных в течение суток после заражения. Летальная модель довольно удобна при изучении антибактериальной активности препаратов *in vivo*, поскольку позволяет оценивать их эффективность по объективным показателям – выживаемости модельных животных и степени санации организма. Кишечную (нелетальную) модель эшерихиозной инфекции у мышей линии C57BL/6 мы применили для оценки эффективности внутрижелудочного применения бактериофага VEc8 и ко-тримоксазола. Исследования по изучению динамики развития кишечного эшерихиоза показало, что у мышей с антибиотик-зависимым дисбиозом кишечника возможна длительная персистенция патогена. Этот эффект позволяет изучать лечебную активность препаратов по изменению содержания клеток модельного штамма кишечной палочки в фекалиях зараженных животных.

В качестве возбудителя эшерихиозной инфекции использовали наиболее вирулентный клинический штамм *E. coli* 3421E/19 из коллекции «ГКПМ-Оболensk». Этот штамм кишечной палочки относится к группе NMEC-эшерихий, вызывающих парентеральную инфекцию, и принадлежит к серогруппе O18. Среднелетальная доза (ЛД50) использованного штамма при внутрибрюшинном введении интактным мышам линии BALB/c составляет $1,1 \times 10^4$ КОЕ. Для повышения вирулентности штамма мы вводили его модельным животным в растворе 2,5%-го муцина. Муцин подавляет активность

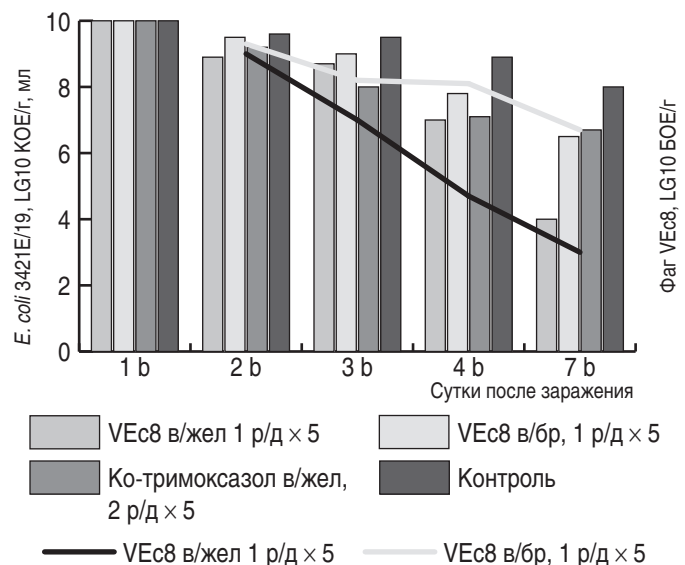


Рис. 4. Содержание клеток *E. coli* 3421E/19 и бактериофага VEc8 в фекалиях мышей при фаготерапии и антибиотикотерапии экспериментальной кишечной инфекции.

Бактериофаг VEc8 вводили однократно внутрижелудочно за 1 ч до заражения в количестве 10^9 БОЕ. Столбцы показывают количество клеток кишечной палочки в фекалиях мышей из разных групп. Линиями обозначено количество фаговых частиц в фекалиях.

перитонеальных макрофагов, препятствуя лизису бактерий в них [55]. В результате показатель ЛД50 снижался в 1000 раз (до 15 КОЕ). Для воспроизведения системного эшерихиоза мышей BALB/c заражали культурой *E. coli* 3421E/19 в количестве $1,5 \times 10^3$ КОЕ с муцином, что составляло 100 ЛД50. Невысокая заражающая доза патогена увеличивает вероятность получить лечебный эффект антибактериальных препаратов при моделировании бактериальных инфекций [56].

Кишечную эшерихиозную инфекцию моделировали на мышцах линии C57BL/6. Эту линию мышей нередко используют для воспроизведения различных кишечных инфекций [57, 58]. С целью повышения чувствительности животных к *E. coli* 3421E/19 при внутрижелудочном заражении мы предварительно подавляли нормальную микрофлору кишечника путем введения антибиотика (клиндамицина). Благодаря этому использованный нами штамм кишечной палочки длительное время (до 14 суток) был способен персистировать в кишечнике модельных животных после интрагастрального введения в дозе 10^9 КОЕ. Через 2 нед. после заражения концентрация клеток *E. coli* 3421E/19 в фекалиях мышей составляет 5,2–7,7 LOG₁₀ КОЕ/г, в то время как у интактных мышей клетки патогена элиминируют из кишечника уже через 3 суток. Следует отметить, что мышей с антибиотик-ассоциированным дисбиозом довольно часто используют для моделирования гастроэнтеральных инфекций [43, 59, 60].

Для экспериментального лечения летальной генерализованной инфекции, вызываемой культурой *E. coli* 3421E/19, мы использовали литический бактериофаг VEс8, который лизирует клетки этого штамма *in vitro*. Разовая доза фага как в режиме профилактики (однократно за час до заражения), так и в режиме лечения (2 раза в сутки, 3 дня, начало лечения через 1,5 ч после заражения) составила 5×10^8 БОЕ. В обоих случаях терапевтическая эффективность фаготерапии летального эшерихиозного сепсиса составила 100%. По эффективности фаготерапия не уступала антибиотикотерапии. Следует отметить, что использованные антибиотики цефтазидим и ко-тримоксазол активны *in vitro* в отношении *E. coli* 3421E/19: МПК составляет <0,25 и 12 мкг/мл соответственно. Подобные результаты мы получали при изучении специфической активности других бактериофагов при терапии летальной септической инфекции у мышей, вызываемой бактериями *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* [56, 61–63]. В результате внутрибрюшинное введение инфицированным мышам фагов SA18, KpV289, PA5, Pm3 обеспечивало выживаемость в 80–100% случаев при сходных схемах профилактики и лечения, а возбудитель инфекции полностью элиминировал из организма модельных животных. Высокую эффективность бактериофагов при лечении летального эшерихиозного сепсиса и менингита показали в своих исследованиях Pouillot F. et al. [64]. Раннее введение бактериофага EC200PP крысам-сосункам, инфицированным штаммом кишечной палочки S242 (O25:H4), защищало от гибели 100% подопытных животных при внутрибрюшинном введении фага и 50% – при подкожном. Терапевтическая доза бактериофага составляла 10^8 БОЕ.

Бактериофаг VEс8 не элиминирует культуру *E. coli* 3421E/19 из кишечника мышей линии C57BL/6, инфицированных внутрижелудочно. С другой стороны, он достоверно снижает ее количество (в $4,8 \times 10^3$ раз) по сравнению с нелечеными контрольными животными. В то же время ко-тримоксазол снижает уровень обсемененности фекалий клетками патогенной кишечной палочки по сравнению с контролем только в 100 раз. Таким образом, в наших исследованиях фаготерапия кишечной инфекции у мышей линии C57BL/6, обусловленной *E. coli* 3421E/19, является более эффективной, чем антибиотикотерапия.

Отсутствие абсолютного санирующего действия бактериофага VEс8 при прямом воздействии фаговых частиц на клетки *E. coli* 3421E/19 в желудочно-кишечном тракте мышей, по всей видимости, связано с формированием субпопуляции фаг-толерантных клеток. Так, например, A.Lacqua et al. [65] показали, что при контакте со специфическим бактериофагом среди клеток *E. coli* MG1655 появляются мутантные клоны с большим количеством белка Dps внешней мембраны, способствующего образованию пилеподобных образований, формирующих матрикс биопленки. Кроме того, у этих мутантов заметно снижалось количество белков наружной мембраны OmpC и OmpF, которые являются рецепторными белками для специфических бактериофагов.

Заключение

Две модели экспериментальной эшерихиозной инфекции были разработаны и использованы для оценки лечебно-профилактической эффективности бактериофага VEс8: летальный сепсис у мышей линии BALB/c и нелетальная кишечная инфекция у мышей линии C57BL/6. В первом случае мышей заражали культурой *E. coli* 3421E/19, суспендированной в растворе муцина, для подавления фагоцитоза. В другой модели использовали мышей с антибиотик-обусловленным дисбиозом кишечника для повышения восприимчивости к эшерихиозной инфекции.

Бактериофаг VEс8 обладает высокой активностью при профилактике и лечении генерализованной инфекции у мышей, вызванной внутрибрюшинным введением летальной дозы культуры клинического штамма *E. coli* 3421E/19. Лечебный результат показал, что фаготерапия не уступает по своей эффективности антибиотикотерапии цефтазидимом или ко-тримоксазолом. Проведенные исследования показали, что однократное внутрибрюшинное введение мышам линии BALB/c бактериофага VEс8 (5×10^8 БОЕ) в режиме профилактики (за 1 ч до заражения), защищает от гибели 100% животных, которые в результате терапии полностью освобождаются от патогенной кишечной палочки. Трехдневное лечение бактериофагом VEс8 летального эшерихиозного сепсиса, начатое через 1,5 ч после заражения, также защищает от гибели и санирует от патогена всех инфицированных мышей. Цефтазидим и ко-тримоксазол также дают 100% лечебный результат.

Бактериофаг VEс8 оказывает санирующее действие при лечении кишечной эшерихиозной инфекции у мышей линии C57BL/6. Внутрижелудочное применение фага в течение 5 дней в разовой дозе 5×10^8 БОЕ значительно снижает содержание клеток *E. coli* 3421E/19 в фекалиях инфицирован-

ных животных. Внутривентриальное введение бактериофага дает худший лечебный эффект.

Пятидневная антибиотикотерапия кишечной эшерихиозной инфекции с использованием ко-тримоксазола менее эффективна по сравнению с внутривентриальной фаготерапией, но не отличается по эффективности от внутривентриального лечения фагом.

Полученные нами результаты доказывают, что бактериофаг VЕс8 является перспективным препаратом для лечения эшерихиозов в качестве альтернативы классическим антибиотикам.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Financial support

The work was carried out within the framework of the sectorial program of Rospotrebnadzor.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

- Литусов НВ. Эшерихии. Иллюстрированное пособие. Екатеринбург: УГМА; 2016, 36 с.
- Карцев НН, Фурсова НК. Эпидемиология, свойства и лабораторная диагностика энтеротоксигенных *Escherichia coli*. Бактериология. 2018;3(1):45-49. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-1-45-49
- Johnson TJ, Nolan LK. Pathogenomics of the virulence plasmids of *Escherichia coli*. Microbiol Mol Biol Rev. 2009 Dec;73(4):750-74. DOI: 10.1128/MMBR.00015-09. Erratum in: Microbiol Mol Biol Rev. 2010 Sep;74(3):477-8.
- Karch H, Tarr PI, Bielaszewska M. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine. Int J Med Microbiol. 2005 Oct;295(6-7):405-18. DOI: 10.1016/j.ijmm.2005.06.009
- Карцев НН, Светоч ЭА. Эпидемиология, свойства и лабораторная диагностика шига-токсин-продуцирующих *Escherichia coli*. Бактериология. 2018;3(1):7-12. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-1-7-12
- Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. Lancet. 2005 Mar 19-25;365(9464):1073-86. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)71144-2
- Noris M, Remuzzi G. Atypical hemolytic-uremic syndrome. N Engl J Med. 2009 Oct 22;361(17):1676-87. DOI: 10.1056/NEJMra0902814
- Caprioli A, Morabito S, Brugère H, Oswald E. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. Vet Res. 2005 May-Jun;36(3):289-311. DOI: 10.1051/vetres:2005002
- Palmer LD, Skaara EP. Cuts Both Ways: Proteases Modulate Virulence of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*. mBio. 2019;10: e00115-19. DOI: 10.1128/mBio.00115-19
- Nyholm O, Heinikainen S, Pelkonen S, Hallanvuoto S, Haukka K, Siitonen A. Hybrids of Shigatoxigenic and Enterotoxigenic *Escherichia coli* (STEC/ETEC) Among Human and Animal Isolates in Finland. Zoonoses Public Health. 2015 Nov;62(7):518-24. DOI: 10.1111/zph.12177
- Frank C, Werber D, Cramer JP, Askar M, Faber M, an der Heiden M, et al; HUS Investigation Team. Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany. N Engl J Med. 2011 Nov 10;365(19):1771-80. DOI: 10.1056/NEJMoa1106483
- Bielaszewska M, Mellmann A, Zhang W, Köck R, Fruth A, Bauwens A, Peters G, Karch H. Characterisation of the *Escherichia coli* strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study. Lancet Infect Dis. 2011 Sep;11(9):671-6. DOI: 10.1016/S1473-3099(11)70165-7
- Mellmann A, Harmsen D, Cummings CA, Zentz EB, Leopold SR, Rico A, et al. Prospective genomic characterization of the German enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 outbreak by rapid next generation sequencing technology. PLoS One. 2011;6(7):e22751. DOI: 10.1371/journal.pone.0022751
- Buchholz U, Bernard H, Werber D, Böhmer MM, Remschmidt C, Wilking H, Deleré Y, et al. German outbreak of *Escherichia coli* O104:H4 associated with sprouts. N Engl J Med. 2011 Nov 10;365(19):1763-70. DOI: 10.1056/NEJMoa1106482
- Rasko DA, Webster DR, Sahl JW, Bashir A, Boisen N, Scheutz F, et al. Origins of the *E. coli* strain causing an outbreak of hemolytic-uremic syndrome in Germany. N Engl J Med. 2011 Aug 25;365(8):709-17. DOI: 10.1056/NEJMoa1106920
- BGI releases the complete map of the Germany *E. coli* O104 genome and attributed the strain as a category of Shiga toxin-producing enteroaggregative *Escherichia coli* (STpEAEC). URL: <http://www.bgisequence.com/eu/newsandevents/news/bgi-releases-the-complete-map-of-the-germany-e-coli-o104-genome>
- Mohammadtaheri Z, Pourpaki M, Mohammadi F, Namdar R, Masjedi MR. Surveillance of antimicrobial susceptibility among bacterial isolates from intensive care unit patients of a tertiary-care university hospital in Iran: 2006–2009. Chemotherapy. 2010;56(6):478-84. DOI: 10.1159/000321032
- Alves HC, Cruz FPN, de Assis PCP, Pessoa JDC, Trevelin LC. Antibiotic Resistance among *Escherichia coli*: Isolates and Novel Approaches to the Control of *E. coli* Infections. 2017. DOI: 10.5772/67400
- Pitout JD, Nordmann P, Laupland KB, Poirel L. Emergence of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) in the community. J Antimicrob Chemother. 2005 Jul;56(1):52-9. DOI: 10.1093/jac/dki166
- Hopkins KL, Davies RH, Threlfall EJ. Mechanisms of quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella*: recent developments. Int J Antimicrob Agents. 2005 May;25(5):358-73. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2005.02.006
- Kmet V, Piatnicová E. Antibiotic resistance in commensal intestinal microflora. Folia Microbiol (Praha). 2010 Jul;55(4):332-5. DOI: 10.1007/s12223-010-0052-3
- Zhanell GG, DeCorby M, Laing N, Weshnoweski B, Vashisht R, Taylor F, et al; Canadian Antimicrobial Resistance Alliance (CARA), Hoban DJ. Antimicrobial-resistant pathogens in intensive care units in Canada: results of the Canadian National Intensive Care Unit (CAN-ICU) study, 2005–2006. Antimicrob Agents Chemother. 2008 Apr;52(4):1430-7. DOI: 10.1128/AAC.01538-07
- Allen HK, Donato J, Wang HH, Cloud-Hansen KA, Davies J, Handelsman J. Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. Nat Rev Microbiol. 2010 Apr;8(4):251-9. DOI: 10.1038/nrmicro2312
- Livermore DM, Woodford N. The beta-lactamase threat in *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* and *Acinetobacter*. Trends Microbiol. 2006 Sep;14(9):413-20. DOI: 10.1016/j.tim.2006.07.008
- Aarestrup FM. Veterinary drug usage and antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2005 Apr;96(4):271-81. DOI: 10.1111/j.1742-7843.2005.pto960401.x
- Горелов АВ, Бондарева АВ. Стартовая терапия эшерихиозов у детей. Лечение и профилактика. 2016;4(20):69-73.
- Руженцова ТА, Плоскирева АА, Горелов АВ. Острая диарея бактериальной этиологии: дифференциальная диагностика и лечение. Медицинский совет. 2016;7:78-81. DOI: 10.21518/2079-701X-2016-07-78-81
- Горелов АВ, Николаева СВ, Усенко ДВ, Плоскирева АА, Руженцова ТА, Михайлова ЕВ, и др. Эффективность применения нифуроксазида при острых кишечных инфекциях бактериальной этиологии у детей. Инфекционные болезни. 2018;16(2):18-26. DOI: 10.20953/1729-9225-2018-2-18-26

29. Michael M, Elliott EJ, Craig JC, Ridley G, Hodson EM. Interventions for hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura: a systematic review of randomized controlled trials. *Am J Kidney Dis.* 2009 Feb;53(2):259-72. DOI: 10.1053/j.ajkd.2008.07.038
30. Johansen BK, Wasteson Y, Granum PE, Brynstad S. Mosaic structure of Shiga-toxin-2-encoding phages isolated from *Escherichia coli* O157:H7 indicates frequent gene exchange between lambdoid phage genomes. *Microbiology (Reading)*. 2001 Jul;147(Pt 7):1929-1936. DOI: 10.1099/00221287-147-7-1929
31. Neely MN, Friedman DI. Functional and genetic analysis of regulatory regions of coliphage H-19B: location of shiga-like toxin and lysis genes suggest a role for phage functions in toxin release. *Mol Microbiol.* 1998 Jun;28(6):1255-67. DOI: 10.1046/j.1365-2958.1998.00890.x
32. Wong CS, Mooney JC, Brandt JR, Staples AO, Jelacic S, Boster DR, Watkins SL, Tarr PI. Risk factors for the hemolytic uremic syndrome in children infected with *Escherichia coli* O157:H7: a multivariable analysis. *Clin Infect Dis.* 2012 Jul;55(1):33-41. DOI: 10.1093/cid/cis299
33. Sandvig K, van Deurs B. Delivery into cells: lessons learned from plant and bacterial toxins. *Gene Ther.* 2005 Jun;12(11):865-72. DOI: 10.1038/sj.gt.3302525
34. Kunsmann L, Rüter C, Bauwens A, Greune L, Glüder M, Kemper B, et al. Virulence from vesicles: Novel mechanisms of host cell injury by *Escherichia coli* O104:H4 outbreak strain. *Sci Rep.* 2015 Aug 18;5:13252. DOI: 10.1038/srep13252
35. Bielaszewska M, Rüter C, Bauwens A, Greune L, Jarosch KA, Steil D, et al. Host cell interactions of outer membrane vesicle-associated virulence factors of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: Intracellular delivery, trafficking and mechanisms of cell injury. *PLoS Pathog.* 2017 Feb 3;13(2):e1006159. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006159
36. Bauwens A, Kunsmann L, Karch H, Mellmann A, Bielaszewska M. Antibiotic-Mediated Modulations of Outer Membrane Vesicles in Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 and O157:H7. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017 Aug 24;61(9):e00937-17. DOI: 10.1128/AAC.00937-17
37. Secher T, Shima A, Hinsinger K, Cintrat JC, Johannes L, Barbier J, Gillet D, Oswald E. Retrograde Trafficking Inhibitor of Shiga Toxins Reduces Morbidity and Mortality of Mice Infected with Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015 Aug;59(8):5010-3. DOI: 10.1128/AAC.00455-15
38. Schneider G, Szentes N, Horváth M, Dorn Á, Cox A, Nagy G, et al. Kinetics of Targeted Phage Rescue in a Mouse Model of Systemic *Escherichia coli* K1. *Biomed Res Int.* 2018 Jul 11;2018:7569645. DOI: 10.1155/2018/7569645
39. Capparelli R, Ventimiglia I, Roperto S, Fenizia D, Iannelli D. Selection of an *Escherichia coli* O157:H7 bacteriophage for persistence in the circulatory system of mice infected experimentally. *Clin Microbiol Infect.* 2006 Mar;12(3):248-53. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2005.01340.x
40. Dissanayake U, Ukhanova M, Moye ZD, Sulakvelidze A, Mai V. Bacteriophages Reduce Pathogenic *Escherichia coli* Counts in Mice Without Distorting Gut Microbiota. *Front Microbiol.* 2019 Sep 10;10:1984. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01984
41. Cai K, Gao X, Li T. Intragastric immunization of mice with enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 bacterial ghosts reduces mortality and shedding and induces a Th2-type dominated mixed immune response. *Can J Microbiol.* 2010;56(5):389-98. DOI: 10.1139/w10-025
42. Gohar A, Abdeltawab NF, Fahmy A, Amin MA. Development of safe, effective and immunogenic vaccine candidate for diarrheagenic *Escherichia coli* main pathotypes in a mouse model. *BMC Research Notes.* 2016;9:Article 80. DOI: 10.1186/s13104-016-1891-z
43. Wadolkovsky EA, Barris JA, O'Brien AD. Model of mice for colonization and diseases caused by enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H. *Infection and Immunity.* 1990;58(8):2438-2445.
44. Myhal ML, Laux DC, Cohen PS. Relative Colonizing Abilities of Human Feces and K12 *Escherichia coli* Strains in the Colon of Streptomycin Mice. *European Journal of Clinical Microbiology.* 1982;1(3):186-192.
45. Roxas JL, Koutsouris A, Bellmeyer A, Tesfay S, Royan S, Falzari K, et al. Enterohemorrhagic *E. coli* alters murine intestinal epithelial tight junction protein expression and barrier function in a Shiga toxin independent manner. *Lab Invest.* 2010 Aug;90(8):1152-68. DOI: 10.1038/labinvest.2010.91
46. Mohawk KL, Melton-Celsa AR, Zangari T, Carroll EE, O'Brien AD. Pathogenesis of *Escherichia coli* O157:H7 strain 86-24 following oral infection of BALB/c mice with an intact commensal flora. *Microb Pathog.* 2010 Mar-Apr;48(3-4):131-42. DOI: 10.1016/j.micpath.2010.01.003
47. Chong Y, Fitzhenry R, Heuschkel R, Torrente F, Frankel G, Phillips AD. Human intestinal tissue tropism in *Escherichia coli* O157:H7--initial colonization of terminal ileum and Peyer's patches and minimal colonic adhesion *ex vivo*. *Microbiology (Reading)*. 2007 Mar;153(Pt 3):794-802. DOI: 10.1099/mic.0.2006/003178-0
48. Schreiber HL 4th, Conover MS, Chou WC, Hibbing ME, Manson AL, Dodson KW, et al. Bacterial virulence phenotypes of *Escherichia coli* and host susceptibility determine risk for urinary tract infections. *Sci Transl Med.* 2017 Mar 22;9(382):eaaf1283. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaf1283
49. Thai KH, Thathireddy A, Hsieh MH. Transurethral induction of mouse urinary tract infection. *J Vis Exp.* 2010;5(42):2070. DOI: 10.3791/2070
50. Stromberg ZR, Johnson JR, Fairbrother JM, Kilbourne J, Van Goor A, Curtiss RRd, Mellata M. Evaluation of *Escherichia coli* isolates from healthy chickens to determine their potential risk to poultry and human health. *PLoS One.* 2017 Jul 3;12(7):e0180599. DOI: 10.1371/journal.pone.0180599
51. Thewaini QNO, Jabuk SIA, Ishwalyia DMM. Experimental mammalian *Escherichia coli* K1 meningitis. *Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS).* 2014;9(4):21-25.
52. Ribes S, Meister T, Ott M, Redlich S, Janova H, Hanisch UK, Nessler S, Nau R. Intraperitoneal prophylaxis with CpG oligodeoxynucleotides protects neutropenic mice against intracerebral *Escherichia coli* K1 infection. *J Neuroinflammation.* 2014 Jan 23;11:14. DOI: 10.1186/1742-2094-11-14
53. Freeman J, Baines SD, Jabes D, Wilcox MH. Comparison of the efficacy of ramoplanin and vancomycin in both *in vitro* and *in vivo* models of clindamycin-induced *Clostridium difficile* infection. *J Antimicrob Chemother.* 2005 Oct;56(4):717-25. DOI: 10.1093/jac/dki321
54. Bartlett JG. Antimicrobial agents implicated in *Clostridium difficile* toxin-associated diarrhea and colitis. *Johns Hopkins Med J.* 1981;149(1):6-9.
55. Sein J, Cachicas V, Becker MI, de Ioannes AE. Mucin allows survival of *Salmonella typhi* within mouse peritoneal macrophages. *Biol Res.* 1993;26:371-380.
56. Борзилов АИ, Коробова ОВ, Комбарова ТИ, Мякинина ВП, Красильникова ВМ, Верёвкин ВВ, и др. Эффективность бактериофага Рm3 и ципрофлоксацина при лечении экспериментальной протейной инфекции у мышей. *Бактериология.* 2020;5(1):14-24. DOI: 10.20953/2500-1027-2020-1-14-24
57. Nilsson OR, Kari L, Steele-Mortimer O. Foodborne infection of mice with *Salmonella Typhimurium*. *PLoS One.* 2019 Aug 8;14(8):e0215190. DOI: 10.1371/journal.pone.0215190
58. Savkovic SD, Villanueva J, Turner JR, Matkowskyj KA, and Hecht G. Mouse Model of Enteropathogenic *Escherichia coli* Infection. *Infection and Immunity.* 2005; 73(2):1161-117. DOI: 10.1128/IAI.73.2.1161-1170.2005
59. Larson HE, Borriello SP. Quantitative study of antibiotic-induced susceptibility to *Clostridium difficile* enterococitis in hamsters. *Antimicrob Agents Chemother.* 1990;34(7):1348-1353. DOI: 10.1128/aac.34.7.1348
60. Gries DM, Pultz NJ, Donskey CJ. Growth in cecal mucus facilitates colonization of the mouse intestinal tract by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis.* 2005;192:1621-1627. DOI: 10.1086/491737
61. Борзилов АИ, Коробова ОВ, Комбарова ТИ, Абаев ИВ. Эффективность бактериофага SA18 при лечении экспериментальной стафилококковой инфекции у мышей линии BALB/c. *Инфекция и иммунитет.* 2017;S:906.
62. Борзилов АИ, Мякинина ВП, Коробова ОВ, Комбарова ТИ, Красильникова ВМ, Верёвкин ВВ, Воложанцев НВ. Оценка лечебно-профилактической эффективности бактериофага *Klebsiella pneumoniae* vB_Kpnp_KpV289 на модели

- острого сепсиса у мышей. Бактериология. 2017;2(1):73-77. DOI: 10.20953/2500-1027-2017-1-73-77
63. Борзилов АИ, Коробова ОВ, Комбарова ТИ, Мякина ВП, Красильникова ВМ, Верёвкин ВВ, Воложанцев НВ. Сравнительное изучение антибактериальной активности бактериофага PA5 и полимиксина на модели летальной синегнойной инфекции у мышей. Бактериология. 2019;4(1):34-43. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-1-34-43
64. Pouillot F, Chomton M, Blois H, Courroux C, Noelig J, Bidet Ph, Bingen E, Bonacorsia S. Efficacy of Bacteriophage Therapy in Experimental Sepsis and Meningitis Caused by a Clone O25b:H4-ST131 *Escherichia coli* Strain Producing CTX-M-15. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2012;56(7): 3568-3575.
65. Lacqua A, Wanner O, Colangelo T, Martinotti MG, Landini P. Emergence of Biofilm-Forming Subpopulations upon Exposure of *Escherichia coli* to Environmental Bacteriophages. *Applied and Environmental Microbiology*. 2006;72(1):956-959. DOI: 10.1128/AEM.72.1.956-959.2006
14. Buchholz U, Bernard H, Werber D, Böhmer MM, Remschmidt C, Wilking H, Deleré Y, et al. German outbreak of *Escherichia coli* O104:H4 associated with sprouts. *N Engl J Med*. 2011 Nov 10;365(19):1763-70. DOI: 10.1056/NEJMoa1106482
15. Rasko DA, Webster DR, Sahl JW, Bashir A, Boisen N, Scheutz F, et al. Origins of the *E. coli* strain causing an outbreak of hemolytic-uremic syndrome in Germany. *N Engl J Med*. 2011 Aug 25;365(8):709-17. DOI: 10.1056/NEJMoa1106920
16. BGI releases the complete map of the Germany *E. coli* O104 genome and attributed the strain as a category of Shiga toxin-producing enteroaggregative *Escherichia coli* (STpEAEC). URL: <http://www.bgisequence.com/eu/newsandevents/news/bgi-releasesthe-complete-map-of-the-germany-e-coli-o104-genome>
17. Mohammadtaheri Z, Pourpaki M, Mohammadi F, Namdar R, Masjedi MR. Surveillance of antimicrobial susceptibility among bacterial isolates from intensive care unit patients of a tertiary-care university hospital in Iran: 2006–2009. *Chemotherapy*. 2010;56(6):478-84. DOI: 10.1159/000321032
18. Alves HC, Cruz FPN, de Assis PCP, Pessoa JDC, Trevelin LC. Antibiotic Resistance among *Escherichia coli*: Isolates and Novel Approaches to the Control of *E. coli* Infections. 2017. DOI: 10.5772/67400
19. Pitout JD, Nordmann P, Laupland KB, Poirel L. Emergence of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) in the community. *J Antimicrob Chemother*. 2005 Jul;56(1):52-9. DOI: 10.1093/jac/dki166
20. Hopkins KL, Davies RH, Threlfall EJ. Mechanisms of quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella*: recent developments. *Int J Antimicrob Agents*. 2005 May;25(5):358-73. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2005.02.006
21. Kmet V, Piatnicová E. Antibiotic resistance in commensal intestinal microflora. *Folia Microbiol (Praha)*. 2010 Jul;55(4):332-5. DOI: 10.1007/s12223-010-0052-3
22. Zhanel GG, DeCorby M, Laing N, Weshnoweski B, Vashisht R, Taylor F, et al; Canadian Antimicrobial Resistance Alliance (CARA), Hoban DJ. Antimicrobial-resistant pathogens in intensive care units in Canada: results of the Canadian National Intensive Care Unit (CAN-ICU) study, 2005–2006. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008 Apr;52(4):1430-7. DOI: 10.1128/AAC.01538-07
23. Allen HK, Donato J, Wang HH, Cloud-Hansen KA, Davies J, Handelsman J. Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. *Nat Rev Microbiol*. 2010 Apr;8(4):251-9. DOI: 10.1038/nrmicro2312
24. Livermore DM, Woodford N. The beta-lactamase threat in *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* and *Acinetobacter*. *Trends Microbiol*. 2006 Sep;14(9):413-20. DOI: 10.1016/j.tim.2006.07.008
25. Aarestrup FM. Veterinary drug usage and antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2005 Apr;96(4):271-81. DOI: 10.1111/j.1742-7843.2005.pto960401.x
26. Gorelov AV, Bondareva AV. The starting therapy of colibacillosis in children. *Treatment and Prevention*. 2016;4(20):69-73. (In Russian).
27. Ruzhentsova TA, Ploskireva AA, Gorelov AV. Acute diarrhea of bacterial etiology: differential diagnosis and treatment. *Medical Council (Meditsinskiy sovet)*. 2016;7:78-81. DOI: 10.21518/2079-701X-2016-07-78-81 (In Russian).
28. Gorelov AV, Nikolaeva SV, Usenko DV, Ploskireva AA, Ruzhentsova TA, Mikhaylova EV, et al. The effectiveness of using nifuroxazide in acute intestinal infections of bacterial etiology in children. *Infekc. bolezni (Infectious diseases)*. 2018;16(1):18-26. DOI: 10.20953/1729-9225-2018-2-18-26 (In Russian).
29. Michael M, Elliott EJ, Craig JC, Ridley G, Hodson EM. Interventions for hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura: a systematic review of randomized controlled trials. *Am J Kidney Dis*. 2009 Feb;53(2):259-72. DOI: 10.1053/j.ajkd.2008.07.038
30. Johansen BK, Wasteson Y, Granum PE, Brynstad S. Mosaic structure of Shiga-toxin-2-encoding phages isolated from *Escherichia coli* O157:H7 indicates frequent gene exchange between lambdoid phage genomes. *Microbiology (Reading)*. 2001 Jul;147(Pt 7):1929-1936. DOI: 10.1099/00221287-147-7-1929

References

1. Litusov NV. *Escherichia*. Yekaterinburg, 2016, 36 p. (In Russian).
2. Kartsev NN, Fursova NK. Epidemiology, properties and laboratory diagnostics of enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Bacteriology*. 2018;3(1):45-49. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-1-45-49 (In Russian).
3. Johnson TJ, Nolan LK. Pathogenomics of the virulence plasmids of *Escherichia coli*. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2009 Dec;73(4):750-74. DOI: 10.1128/MMBR.00015-09. Erratum in: *Microbiol Mol Biol Rev*. 2010 Sep;74(3):477-8
4. Karch H, Tarr PI, Bielaszewska M. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine. *Int J Med Microbiol*. 2005 Oct;295(6-7):405-18. DOI: 10.1016/j.ijmm.2005.06.009
5. Kartsev NN, Svetoch EA. Epidemiology, properties and laboratory diagnostics of *E.coli*-producing shiga-toxins. *Bacteriology*. 2018;3(1):7-12. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-1-7-12 (In Russian).
6. Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. *Lancet*. 2005 Mar 19;365(9464):1073-86. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)71144-2
7. Noris M, Remuzzi G. Atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med*. 2009 Oct 22;361(17):1676-87. DOI: 10.1056/NEJMra0902814
8. Caprioli A, Morabito S, Brugère H, Oswald E. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Vet Res*. 2005 May-Jun;36(3):289-311. DOI: 10.1051/vetres:2005002
9. Palmer LD, Skaara EP. Cuts Both Ways: Proteases Modulate Virulence of Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *mBio*. 2019;10: e00115-19. DOI: 10.1128/mBio.00115-19
10. Nyholm O, Heinikainen S, Pelkonen S, Hallanvuo S, Haukka K, Siitonen A. Hybrids of Shigatoxigenic and Enterotoxigenic *Escherichia coli* (STEC/ETEC) Among Human and Animal Isolates in Finland. *Zoonoses Public Health*. 2015 Nov;62(7):518-24. DOI: 10.1111/zph.12177
11. Frank C, Werber D, Cramer JP, Askar M, Faber M, an der Heiden M, et al; HUS Investigation Team. Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany. *N Engl J Med*. 2011 Nov 10;365(19):1771-80. DOI: 10.1056/NEJMoa1106483
12. Bielaszewska M, Mellmann A, Zhang W, Köck R, Fruth A, Bauwens A, Peters G, Karch H. Characterisation of the *Escherichia coli* strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study. *Lancet Infect Dis*. 2011 Sep;11(9):671-6. DOI: 10.1016/S1473-3099(11)70165-7
13. Mellmann A, Harmsen D, Cummings CA, Zentz EB, Leopold SR, Rico A, et al. Prospective genomic characterization of the German enterohemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 outbreak by rapid next generation sequencing technology. *PLoS One*. 2011;6(7):e22751. DOI: 10.1371/journal.pone.0022751

31. Neely MN, Friedman DI. Functional and genetic analysis of regulatory regions of coliphage H-19B: location of shiga-like toxin and lysis genes suggest a role for phage functions in toxin release. *Mol Microbiol*. 1998 Jun;28(6):1255-67. DOI: 10.1046/j.1365-2958.1998.00890.x
32. Wong CS, Mooney JC, Brandt JR, Staples AO, Jelacic S, Boster DR, Watkins SL, Tarr PI. Risk factors for the hemolytic uremic syndrome in children infected with *Escherichia coli* O157:H7: a multivariable analysis. *Clin Infect Dis*. 2012 Jul;55(1):33-41. DOI: 10.1093/cid/cis299
33. Sandvig K, van Deurs B. Delivery into cells: lessons learned from plant and bacterial toxins. *Gene Ther*. 2005 Jun;12(11):865-72. DOI: 10.1038/sj.gt.3302525
34. Kunsmann L, Rüter C, Bauwens A, Greune L, Glüder M, Kemper B, et al. Virulence from vesicles: Novel mechanisms of host cell injury by *Escherichia coli* O104:H4 outbreak strain. *Sci Rep*. 2015 Aug 18;5:13252. DOI: 10.1038/srep13252
35. Bielaszewska M, Rüter C, Bauwens A, Greune L, Jarosch KA, Steil D, et al. Host cell interactions of outer membrane vesicle-associated virulence factors of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: Intracellular delivery, trafficking and mechanisms of cell injury. *PLoS Pathog*. 2017 Feb 3;13(2):e1006159. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006159
36. Bauwens A, Kunsmann L, Karch H, Mellmann A, Bielaszewska M. Antibiotic-Mediated Modulations of Outer Membrane Vesicles in Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 and O157:H7. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017 Aug 24;61(9):e00937-17. DOI: 10.1128/AAC.00937-17
37. Secher T, Shima A, Hinsinger K, Cintrat JC, Johannes L, Barbier J, Gillet D, Oswald E. Retrograde Trafficking Inhibitor of Shiga Toxins Reduces Morbidity and Mortality of Mice Infected with Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015 Aug;59(8):5010-3. DOI: 10.1128/AAC.00455-15
38. Schneider G, Szentes N, Horváth M, Dorn Á, Cox A, Nagy G, et al. Kinetics of Targeted Phage Rescue in a Mouse Model of Systemic *Escherichia coli* K1. *Biomed Res Int*. 2018 Jul 11;2018:7569645. DOI: 10.1155/2018/7569645
39. Capparelli R, Ventimiglia I, Roperto S, Fenizia D, Iannelli D. Selection of an *Escherichia coli* O157:H7 bacteriophage for persistence in the circulatory system of mice infected experimentally. *Clin Microbiol Infect*. 2006 Mar;12(3):248-53. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2005.01340.x
40. Dissanayake U, Ukhanova M, Moye ZD, Sulakvelidze A, Mai V. Bacteriophages Reduce Pathogenic *Escherichia coli* Counts in Mice Without Distorting Gut Microbiota. *Front Microbiol*. 2019 Sep 10;10:1984. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01984
41. Cai K, Gao X, Li T. Intra-gastric immunization of mice with enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 bacterial ghosts reduces mortality and shedding and induces a Th2-type dominated mixed immune response. *Can J Microbiol*. 2010;56(5):389-98. DOI: 10.1139/w10-025
42. Gohar A, Abdeltawab NF, Fahmy A, Amin MA. Development of safe, effective and immunogenic vaccine candidate for diarrheagenic *Escherichia coli* main pathotypes in a mouse model. *BMC Research Notes*. 2016;9:Article 80. DOI: 10.1186/s13104-016-1891-z
43. Wadolkovsky EA, Barris JA, O'Brien AD. Model of mice for colonization and diseases caused by enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H. *Infection and Immunity*. 1990;58(8):2438-2445.
44. Myhal ML, Laux DC, Cohen PS. Relative Colonizing Abilities of Human Feces and K12 *Escherichia coli* Strains in the Colon of Streptomycin Mice. *European Journal of Clinical Microbiology*. 1982;1(3):186-192.
45. Roxas JL, Koutsouris A, Bellmeyer A, Tesfay S, Royan S, Falzari K, et al. Enterohemorrhagic *E. coli* alters murine intestinal epithelial tight junction protein expression and barrier function in a Shiga toxin independent manner. *Lab Invest*. 2010 Aug;90(8):1152-68. DOI: 10.1038/labinvest.2010.91
46. Mohawk KL, Melton-Celsa AR, Zangari T, Carroll EE, O'Brien AD. Pathogenesis of *Escherichia coli* O157:H7 strain 86-24 following oral infection of BALB/c mice with an intact commensal flora. *Microb Pathog*. 2010 Mar-Apr;48(3-4):131-42. DOI: 10.1016/j.micpath.2010.01.003
47. Chong Y, Fitzhenry R, Heuschkel R, Torrente F, Frankel G, Phillips AD. Human intestinal tissue tropism in *Escherichia coli* O157:H7--initial colonization of terminal ileum and Peyer's patches and minimal colonic adhesion *ex vivo*. *Microbiology (Reading)*. 2007 Mar;153(Pt 3):794-802. DOI: 10.1099/mic.0.2006/003178-0
48. Schreiber HL 4th, Conover MS, Chou WC, Hibbing ME, Manson AL, Dodson KW, et al. Bacterial virulence phenotypes of *Escherichia coli* and host susceptibility determine risk for urinary tract infections. *Sci Transl Med*. 2017 Mar 22;9(382):eaaf1283. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaf1283
49. Thai KH, Thathireddy A, Hsieh MH. Transurethral induction of mouse urinary tract infection. *J Vis Exp*. 2010;5(42):2070. DOI: 10.3791/2070
50. Stromberg ZR, Johnson JR, Fairbrother JM, Kilbourne J, Van Goor A, Curtiss RRd, Mellata M. Evaluation of *Escherichia coli* isolates from healthy chickens to determine their potential risk to poultry and human health. *PLoS One*. 2017 Jul 3;12(7):e0180599. DOI: 10.1371/journal.pone.0180599
51. Thewaini QNO, Jabuk SIA, Ishwalyia DMM. Experimental mammalian *Escherichia coli* K1 meningitis. *Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS)*. 2014;9(4):21-25.
52. Ribes S, Meister T, Ott M, Redlich S, Janova H, Hanisch UK, Nessler S, Nau R. Intraperitoneal prophylaxis with CpG oligodeoxynucleotides protects neutropenic mice against intracerebral *Escherichia coli* K1 infection. *J Neuroinflammation*. 2014 Jan 23;11:14. DOI: 10.1186/1742-2094-11-14
53. Freeman J, Baines SD, Jabes D, Wilcox MH. Comparison of the efficacy of ramoplanin and vancomycin in both *in vitro* and *in vivo* models of clindamycin-induced *Clostridium difficile* infection. *J Antimicrob Chemother*. 2005 Oct;56(4):717-25. DOI: 10.1093/jac/dki321
54. Bartlett JG. Antimicrobial agents implicated in *Clostridium difficile* toxin-associated diarrhea and colitis. *Johns Hopkins Med J*. 1981;149(1):6-9.
55. Sein J, Cachicas V, Becker MI, de Ioannes AE. Mucin allows survival of *Salmonella typhi* within mouse peritoneal macrophages. *Biol Res*. 1993;26:371-380.
56. Borzilov AI, Korobova OV, Kombarova TI, Myakinina VP, Krasilnikova VM, Verevkin VV, et al. Effectiveness of bacteriophage Pm3 and ciprofloxacin in treating experimental proteus infections in mice. *Bacteriology*. 2020;5(1):14-24. (In Russian).
57. Nilsson OR, Kari L, Steele-Mortimer O. Foodborne infection of mice with *Salmonella Typhimurium*. *PLoS One*. 2019 Aug 8;14(8):e0215190. DOI: 10.1371/journal.pone.0215190
58. Savkovic SD, Villanueva J, Turner JR, Matkowskyj KA, and Hecht G. Mouse Model of Enteropathogenic *Escherichia coli* Infection. *Infection and Immunity*. 2005; 73(2):1161-117. DOI: 10.1128/IAI.73.2.1161-1170.2005
59. Larson HE, Borriello SP. Quantitative study of antibiotic-induced susceptibility to *Clostridium difficile* enterocolitis in hamsters. *Antimicrob Agents Chemother*. 1990;34(7):1348-1353. DOI: 10.1128/aac.34.7.1348
60. Gries DM, Pultz NJ, Donskey CJ. Growth in cecal mucus facilitates colonization of the mouse intestinal tract by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis*. 2005;192:1621-1627. DOI: 10.1086/491737
61. Borzilov AI, Korobova OV, Kombarova TI, Abaev IV. Effektivnost' bakteriofaga SA18 pri lechenii eksperimental'noi stafilokokkovoi infektsii u myshei linii BALB/s. *Infektsiya i immunitet (Russian Journal of Infection and Immunity)*. 2017;S:906. (In Russian).
62. Borzilov AI, Myakinina VP, Korobova OV, Kombarova TI, Krasilnikova VM, Verevkin VV, Volozhantsev NV. Evaluation of preventive and therapeutic efficacy of *Klebsiella pneumoniae* bacteriophage vB_Kpnp_KpV289 on the model of acute sepsis in mice. *Bacteriology*. 2017;2(1):73-77. DOI: 10.20953/2500-1027-2017-1-73-77 (In Russian).
63. Borzilov AI, Korobova OV, Kombarova TI, Myakinina VP, Krasilnikova VM, Verevkin VV, Volozhantsev NV. Comparative study of antibacterial activities of

- bacteriophage PA5 and polymyxin on the model of lethal pseudomonas infection in mice. *Bacteriology*. 2019;4(1):34-43. (In Russian).
64. Pouillot F, Chomton M, Blois H, Courroux C, Noelig J, Bidet Ph, Bingen E, Bonacorsia S. Efficacy of Bacteriophage Therapy in Experimental Sepsis and Meningitis Caused by a Clone O25b:H4-ST131 *Escherichia coli* Strain Producing CTX-M-15. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2012;56(7):3568-3575.
65. Lacqua A, Wanner O, Colangelo T, Martinotti MG, Landini P. Emergence of Biofilm-Forming Subpopulations upon Exposure of *Escherichia coli* to Environmental Bacteriophages. *Applied and Environmental Microbiology*. 2006;72(1):956-959. DOI: 10.1128/AEM.72.1.956-959.2006

Информация об авторах:

Коробова Ольга Васильевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биологических испытаний ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24 ФБУН ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 36-0147
E-mail: korobova@obolensk.org

Комбарова Татьяна Ивановна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биологических испытаний ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24 ФБУН ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 36-0147
E-mail: kombarova@obolensk.org

Денисенко Егор Алексеевич, научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики и генно-инженерных препаратов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24 ФБУН ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 36-0147
E-mail: egord1988@gmail.com

Верёвкин Владимир Васильевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики и генно-инженерных препаратов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24 ФБУН ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 36-0147
E-mail: verevkin@obolensk.org

Ганина Елена Анатольевна, научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24 ФБУН ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 36-0147
E-mail: ganin43@yandex.ru

Воложанцев Николай Валентинович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики и генно-инженерных препаратов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24 ФБУН ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 36-0147
E-mail: nikvol@obolensk.org

Information about authors:

Olga V. Korobova, PhD (Biological Sciences), Senior Researcher of Biological Testing Laboratory, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор
Address: SRCAMB Bld. 24, "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0147
E-mail: korobova@obolensk.org

Tatyana I. Kombarova, PhD (Biological Sciences), Senior Researcher of Biological testing laboratory, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор
Address: SRCAMB Bld. 24, "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0147
E-mail: kombarova@obolensk.org

Egor A. Denisenko, Researcher of Laboratory of Molecular Diagnostics and Genetically Engineered Drugs, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор
Address: SRCAMB Bld. 24, "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0147
E-mail: egord1988@gmail.com

Vladimir V. Verevkin, PhD (Biological Sciences), Senior Researcher of Laboratory of Molecular Diagnostics and Genetically Engineered Drugs, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор
Address: SRCAMB Bld. 24, "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0147
E-mail: verevkin@obolensk.org

Elena A. Ganina, Researcher of Laboratory of Nanobiotechnology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор
Address: SRCAMB Bld. 24, "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0147
E-mail: ganin43@yandex.ru

Nikolay V. Volozhantsev, PhD (Biological Sciences), Leading Researcher of Laboratory of Molecular Diagnostics and Genetically Engineered Drugs, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор
Address: SRCAMB Bld. 24, "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0147
E-mail: nikvol@obolensk.org

НОВЫЕ КНИГИ

Автору удалось найти беспрецедентно большое количество данных по сибирской язве в Российской империи. Выяснилось, что имперская ветеринарная и медицинская информация (изумительного качества!) практически не использовалась для научных целей в СССР. Появились принципиально новые возможности строго научной реконструкции сибиреязвенного процесса за период 1860–1914 гг. Обрывочный, хотя и вполне большой массив новых данных найден по более раннему и позднему периодам (до конца 1920-х годов). Рассмотрен ряд вопросов теоретического и методологического характера по обработке палеоинфекционных данных и их введению в научный оборот. Дается детальное описание феномена неиспользования знания по сибирской язве, накопленного в Российской империи. Работа выполнена в духе инфекционной экологии. Новый, волнующий научный подход.

Д. НИКОЛАЕНКО

СИБИРСКАЯ ЯЗВА В РОССИЙСКОЙ ИМПЕРИИ ПЕРВАЯ КНИГА

Электронная версия книги доступна по адресу: https://www.researchgate.net/publication/350525201_Anthrax_in-Russian-Empire_First_book_2nd_edition_Environmental_Epidemiology_2021_15_2-3_4_-411

Лиофилизированное антимикробное средство на основе эндогенных дефензинов

И.А.Базиков¹, А.Н.Мальцев¹, А.А.Ефременко¹, М.В.Рубайло¹, Ф.И.Базиков²

¹ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет», Ставрополь, Российская Федерация;

²Миланский государственный университет, Милан, Италия

Бесконтрольное применение антибиотиков и антисептиков во время пандемии COVID-19 привело к значительному росту инфекций, резистентных к лечению традиционными антибиотиками. На этом фоне возникла необходимость поиска антимикробных препаратов широкого действия для лечения инфекционных осложнений, вызванных антибиотикоустойчивыми микроорганизмами. При использовании дефензинов у бактерий не формируется резистентность. Целью исследования являлось получение лиофилизированного антимикробного средства на основе дефензинов, последующее инкапсулирование его в кремнийорганические ниосомы и изучение его эффективности в эксперименте. Разработанный процесс лиофилизации ранее полученных эндогенных дефензинов и их последующего инкапсулирования в кремнийорганические ниосомы продемонстрировал их эффективность при заживлении ран, зараженных антибиотикорезистентными штаммами *Staphylococcus aureus* в эксперименте. При синергии действия двух типов пептидов продемонстрировано увеличение линейной скорости заживления инфицированных ран по сравнению с контролем.

Ключевые слова: антибиотикорезистентность, дефензины, лиофилизация, синергия, ранозаживление

Для цитирования: Базиков И.А., Мальцев А.Н., Ефременко А.А., Рубайло М.В., Базиков Ф.И. Лиофилизированное антимикробное средство на основе эндогенных дефензинов. Бактериология. 2021; 6(2): 23–26. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-2-23-26

Lyophilized antimicrobial agent based on endogenic defensins

I.A.Bazikov¹, A.N.Maltsev¹, A.A.Efremenko¹, M.V.Rubailo¹, F.I.Bazikov²

¹Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation;

²Milan State University, Milan, Italy

The uncontrolled use of antibiotics and antiseptics during the COVID-19 pandemic has led to a significant increase in infections resistant to traditional antibiotic treatment. Against this background, it became necessary to search for broad-spectrum antimicrobial drugs for the treatment of infectious complications caused by antibiotic-resistant microorganisms. When using defensins, bacteria do not develop resistance. The aim of the study was to obtain the lyophilized antimicrobial agent based on defensins, followed by encapsulation in organosilicon niosomes, and to study its effectiveness in an experiment. Developed process of lyophilization of previously obtained endogenous defensins and their subsequent encapsulation in organosilicon niosomes demonstrated their effectiveness in the healing of wounds infected with antibiotic-resistant strains of *Staphylococcus aureus* in the experiment. With the synergy of the action of the two types of peptides, the increase in the linear rate of healing of infected wounds was demonstrated as compared to the control.

Key words: antibiotic resistance, defensins, lyophilization, synergy, wound healing

For citation: Bazikov I.A., Maltsev A.N., Efremenko A.A., Rubailo M.V., Bazikov F.I. Lyophilized antimicrobial agent based on endogenic defensins. Bacteriology. 2021; 6(2): 23–26. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2021-2-23-26

Штаммы микроорганизмов, в том числе и респираторные патогены (классический пневмококк, гемофильная палочка и др.) с множественной лекарственной устойчивостью, становятся все более распространенной причиной бактериальных осложнений коронавирусной инфекции.

Возросшее из-за COVID-19 использование антибиотиков приводит к росту резистентных штаммов микроорганизмов, обусловленному в большей части генами устойчивости, расположенными на подвижных генетических элементах бактерий, что облегчает их внутривидовое распространение [1].

Для корреспонденции:

Ефременко Анна Александровна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет»

Адрес: 355017, Ставрополь, ул. Мира, 310

Телефон: (8652) 35-2475

E-mail: ania300380@mail.ru

Статья поступила 01.07.2021 г., принята к печати 30.08.2021 г.

For correspondence:

Anna A. Efremenko, MD, PhD, Associate Professor of the Department of Microbiology, Stavropol State Medical University

Address: 310 Mira str., Stavropol, 355017, Russian Federation

Phone: (8652) 35-2475

E-mail: ania300380@mail.ru

The article was received 01.07.2021, accepted for publication 30.08.2021

По некоторым данным, после пандемии коронавирусной инфекции резистентных бактерий станет в 3–4 раза больше [2]. На фоне пандемии необоснованное назначение происходит в 90% случаев, однако эти препараты нужны лишь 10% пациентов, у которых развиваются бактериальные осложнения.

Перспективы применения в качестве антимикробных препаратов (АМП) широкого действия для лечения инфекционных осложнений, вызванных антибиотикоустойчивыми микроорганизмами, имеют дефензины [3, 4], так как при их использовании у бактерий не формируется резистентность [5].

Предварительно нами были разработаны способы выделения из клеток крови и ткани дефензинов, продемонстрировавших высокую эффективность при подавлении роста микроорганизмов *in vitro* [6]. Однако при применении данной методики мы получаем дефензины в весьма низких концентрациях (0,3–0,4 мкг/мл). Для повышения концентрации дефензинов и увеличения сроков хранения разработана методика лиофилизации эндогенных дефензинов. Это мягкий способ сушки веществ, при котором высушиваемый препарат замораживают, а потом помещают в вакуумную камеру, в которой происходит возгонка растворителя. Преимуществами такого способа высушивания являются: отсутствие воздействия на препарат высоких температур, сохранение дисперсной фазы препарата, возможность использования летучих растворителей. Метод лиофилизации позволяет получать препарат без потери его структурной целостности и биологической активности. При лиофилизации большинство белков не подвергаются денатурации и могут длительно сохраняться при умеренном охлаждении (около 0°C). Лيوфилизированные ткани и препараты при увлажнении восстанавливают свои первоначальные свойства, а инкапсулирование в трансдермальные переносчики-ниосомы [7–9] придает им дополнительные свойства.

Таким образом, **целью исследования** являлось получение лиофилизированного антимикробного средства на основе дефензинов, последующее инкапсулирование в кремнийорганические ниосомы и изучение его эффективности в эксперименте.

Материалы и методы

Количественное определение эндогенных дефензинов проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Для получения дефензинов в качестве сырья использовали плацентарную ткань [3, 10]. Осуществляли вирусологический контроль (на отсутствие HBS-антител к вирусу гепатита В, антител к вирусу гепатита С и ВИЧ), определение рН ($6,81 \pm 0,23$), содержания аминного азота ($249,90 \pm 36,35$ мг%). Ткань плаценты предварительно подвергали гомогенизации, гидролизат получали ферментативным гидролизом с использованием 10 мл стерильного раствора трипсина (ООО «Биолот», Санкт-Петербург, Россия) на 100 мл гидролизуемой смеси в течение 1 ч в фосфатном буфере (рН 7,4). Гидролизат осветляли 0,6%-м раствором перекиси водорода. Гель-фильтрацию полученного гидролизата проводили с помощью разделительной колонки, на дне которой находился мелкопористый фильтр с диаметром пор 0,22 мкм и 30 г Сефадекса G-25. Фильтры стерилизовали с

помощью водяного пара и ультрафиолета. Первую фракцию удаляли. Затем проводили гель-фильтрацию на колонке с раствором фосфатного буфера (рН 7,4). Отбирали пробу с максимальным содержанием антибактериальных пептидов массой 3–5 кДа. Для определения максимальной концентрации АМП в полученных образцах проб использовали метод ВЭЖХ на хроматографе «Люмахром» (Россия) при длине волны 214 нм. В качестве подвижной фазы использовали фосфатный буфер (рН 7,4). Скорость подачи подвижной фазы – 150 мм³/мин. В качестве исследуемого образца использовался стандарт дефензинов альфа и бета с концентрацией 0,625–50 мкг/мл. В качестве подвижной фазы использовали ацетонитрил. Скорость подачи подвижной фазы была 2,5 мм³/мин, объем образца 50 мкл при температуре 20°C. Детекция фракций проводилась с помощью УФ-детектора на частоте волны 214 нм. Скорость подачи подвижной фазы составлял 150 мм³/мин [6, 11].

Раствор после приготовления сразу же дозированно вносили в ампулы для инъекции. Применяли ампулы бесцветные, гидролитического класса 1, при асептических условиях, предварительно стерилизованные. Наполненные ампулы для инъекций помещали в установку для лиофильного высушивания и сушили при заданной температуре. Процесс лиофилизации растворов, адаптированный к объему лиофилизата и емкости, состоял из следующих этапов: цикл вымораживания, затем сублимации и высушивания. Лيوфилизацию осуществляли в лиофилизаторе Usifroid (Франция) типа SMH 15, SMJ 100 или SMH 2000, при этом скорость вымораживания – 2°C в минуту. Гидролизат дефензинов загружали в лиофильную сушилку при температуре +20°C, охлаждали за 1-й час до -22°C, затем в течение 2-го часа до -31°C, в течение 3-го часа до -40°C и за 4-й час до -48°C, и при этой температуре выдерживали 5 ч. Высушивание осуществляли с помощью программы высушивания при температуре плиты, повышающейся от -40°C до +20°C. Затем установку заполняли стерильным азотом, ампулы запаивали (флаконы в установке закрывали и пробки снабжали клапаном с бортиком). Проводили визуальный контроль на наружные дефекты первичной упаковки, контроль на механические включения и прозрачность проводили с применением растворения образца. Ампулы для инъекций с дефектами уничтожали.

В дальнейшем эндогенные дефензины инкапсулировали в кремнийорганические ниосомы. В качестве поверхностно-активного соединения для формирования ниосом использовали ПЭГ-12 диметикон [12]. Навеску лиофилизированного субстрата эндогенных дефензинов растворяли в стерильном растворе Хенкса, из расчета 0,05 мг эндогенных дефензинов в 1 мл раствора. В полученный раствор для формирования ниосом поэтапно добавляли 100 мл ПЭГ-12 диметикона и 400 мл воды. Начальный процесс образования ниосом и инкапсулирования в них лиофилизата проводили при комнатной температуре и интенсивном механическом встряхивании на шейкере в течение 5 мин. Стадия формирования ниосом более мелких размеров происходила при интенсивном механическом перемешивании смеси с использованием APV-гомогенизатора. Формирование ниосом размером 100–140 нм проводили следующим образом. Предварительно полученную дисперсию ниосом с инкапсулированным лекар-

ственным веществом помещали в сосуд для ультразвуковой обработки и проводили экспозицию ниосом с временными интервалами в 15, 30 и 45 мин. Для того чтобы физико-химические характеристики кремнийорганических ниосом были постоянными, использовали 50 мл гелеобразователя, который образовывал трехмерную объемную «сетку» при добавлении 20 мл триэтанолamina. Общий объем геля доводили до 1000 мл очищенной водой.

Эффективность полученного антимикробного ниосомального геля на основе эндогенных дефензинов проверяли на инфицированных ранах в эксперименте. Для моделирования экспериментальной раны использовали лабораторных крыс породы Wistar. Рану наносили с помощью инструментов для панч-биопсии (диаметр – 8 мм) на предварительно выбритую поверхность спины. В дальнейшем рану инфицировали добавлением 2 мл суспензии штаммов *Staphylococcus aureus* (стандарт мутности 0,5 по Мак-Фарланду). Площадь раны оценивали с помощью программного обеспечения Lesion Meter. Опытная группа ($n = 10$) получала ниосомальный гель на основе эндогенных дефензинов по 1 мл 2 раза в сутки. Контрольная группа ($n = 10$) получала плацебо – гель без лиофилизированного субстрата дефензинов.

Результаты и обсуждение

Лиофилизированный субстрат на основе эндогенных дефензинов представляет собой белый пористый порошок. Условия хранения полученного лиофилизата предполагают его хранение в сухом, защищенном от света месте при температуре 2–8°C.

Изучение лечения инфицированных ран на животных показало, что линейная скорость заживления ран (V , мм²) на 7-й день эксперимента составила в среднем $0,0051 \pm 0,0147$ мм² в сутки в контрольной группе (таблица). У крыс, получавших опытный образец ниосомального геля с эндогенными дефензинами в дозе 0,05 мг/мл, установлена более высокая скорость ранозаживления. Так, среднее значение V в данной группе составило $0,0236 \pm 0,0120$ мм² в сутки ($p < 0,05$). При расчете скорости регенерации раны с 7-го по 14-й день были получены аналогичные данные. Так, в контрольной группе V составила $0,0051 \pm 0,0071$ мм² в сутки, в то время как среднее значение V в опытной группе, получавшей ниосомальный гель с эндогенными дефензинами, равнялось $0,0286 \pm 0,0146$ мм² в сутки. Различия между экспериментальными группами были статистически достоверными ($p < 0,05$).

Также следует отметить, что средняя площадь ран в контрольной группе в течение первой недели эксперимента составила $4,5 \pm 1,9$ мм². В опытной группе площадь раны со-

ставила $2,1 \pm 0,86$ мм². К концу эксперимента, на 14-й день, данные показатели составили $2,1 \pm 0,86$ мм² в контрольной группе и $1,1 \pm 0,9$ мм² в экспериментальной группе (таблица). Для точного теста Фишера было принято значение площади раны ≤ 1 мм², соответствующее полной регенерации. Незаживающим ранам соответствовала площадь > 1 мм². Регенерация инфицированных антибиотикорезистентной микрофлорой ран к концу 2-й недели по сравнению с контролем была статистически значимой в группе животных, получающих ниосомальный гель с эндогенными дефензинами ($p < 0,05$).

Таким образом, опытный образец лиофилизированного антимикробного средства на основе дефензинов в конечной концентрации в ниосомальном геле в дозе 1 мкг/мл при использовании один раз в день продемонстрировал эффективность при заживлении ран, зараженных антибиотикорезистентными штаммами *S. aureus*. Полученные результаты показывают значительно увеличенную линейную скорость заживления инфицированных ран по сравнению с контролем. Предположительно, синергетическая эффективность обусловлена высокой антибактериальной активностью эндогенных дефензинов [13, 14], а также иммуномодулирующими и регенераторными свойствами входящих в пептидный комплекс низкомолекулярных пептидов плацентарной ткани [15, 16].

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства здравоохранения РФ.

Financial support

The work was carried out within the framework of a state assignment Ministry of Health of the Russian Federation.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

1. Сидоренко СВ, Тишков ВИ. Молекулярные основы резистентности к антибиотикам. Успехи биологической химии. 2004;44:263-306.
2. Wang C, Horby PW, Hayden FG, Gao GF. A novel coronavirus outbreak of global health concern. Lancet. 2020 Feb 15;395(10223):470-473. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30185-9. Epub 2020 Jan 24. Erratum in: Lancet. 2020 Jan 29.
3. Hassan M, Kjos M, Nes IF, Diep DB, Lotfipour F. Natural antimicrobial peptides from bacteria: characteristics and potential applications to fight against antibiotic resistance. J Appl Microbiol. 2012 Oct;113(4):723-36. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2012.05338.x
4. Wang G. Improved methods for classification, prediction, and design of antimicrobial peptides. Methods Mol Biol. 2015;1268:43-66. DOI: 10.1007/978-1-4939-2285-7_3
5. Andersson DI, Hughes D, Kubicek-Sutherland JZ. Mechanisms and consequences of bacterial resistance to antimicrobial peptides. Drug Resist Updat. 2016 May;26:43-57. DOI: 10.1016/j.drup.2016.04.002
6. Базиков ИА, Мальцев АН, Батулин ВА, Рамеш КГ, Наджирул Амин А, Ефременко АА. Способ выделения природных антимикробных пептидов из лейкоцитарно-эритроцитарно-тромбоцитарной массы крови. Патент на изобретение №2729016 от 04.08.2020.

Таблица. Динамика ранозаживления при использовании лиофилизированного антимикробного средства на основе дефензинов

Группы	Скорость заживления ран (V, мм ² /сутки)		Средняя площадь ран (S, мм ² /сутки)	
	7-й день	14-й день	7-й день	14-й день
Контроль	0,005 ± 0,015	0,005 ± 0,007	4,5 ± 1,9	3,6 ± 1,6
Опыт	0,024 ± 0,012*	0,029 ± 0,015*	2,1 ± 0,86*	1,1 ± 0,9*

* $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

7. Debnath A, Kumar A. Structural and Functional significance of Niosome and Proniosome in Drug Delivery System. *International Journal of Pharmacy and Engineering*. 2015;3: 621-637.
8. Rai A. Niosomes: An approach to current drug delivery – A Review. *International Journal of Advances in Pharmaceutics*. 2017;06:41-48.
9. Sunilkumar M. Niosomes As novel drug delivery system. *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Science*. 2015;5:1-7.
10. Базиков ИА, Куличенко АН, Ковалев ДА, Бинатова ВВ, Мальцев АН, Клиникова НИ, и др. Изучение химического состава пептидов в составе нiosoмального препарата «Регенерин». *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2017;12(2):176-180. DOI: 10.14300/mnnc.2017.12049
11. Diskaeva E, Vecher O, Diskaeva E, Bazikov I, Elbekyan K. Review of methods for size and morphology determination of vesicles in niosome dispersion. *Scientific and Technical Journal of Information Technologies, Mechanics and Optics*. 2020;20(3):377-81.
12. Vecher V, Diskaeva E, Bazikov I, Elbekyan K, Diskaeva E. Study of some rheological properties of niosomal dispersions of various concentrations based on PEG-12 dimethicone, 2020 *Adv. Nat. Sci: Nanosci. Nanotechnol.* 11 045007.
13. Bolatchiev A, Baturin V, Bazikov I, Maltsev A, Kunitsina E. Effect of antimicrobial peptides HNP-1 and hBD-1 on *Staphylococcus aureus* strains *in vitro* and *in vivo*. *Fundam Clin Pharmacol*. 2020 Feb;34(1):102-108. DOI: 10.1111/fcp.12499
14. Fjell CD, Hiss JA, Hancock RE, Schneider G. Designing antimicrobial peptides: form follows function. *Nat Rev Drug Discov*. 2011 Dec 16;11(1):37-51. DOI: 10.1038/nrd3591. Erratum in: *Nat Rev Drug Discov*. 2012 Feb;11(2):168.
15. Pasupuleti M, Schmidtchen A, Malmsten M. Antimicrobial peptides: key components of the innate immune system. *Crit Rev Biotechnol*. 2012 Jun;32(2):143-71. DOI: 10.3109/07388551.2011.594423
16. Wang G, Li X, Wang Z. APD3: the antimicrobial peptide database as a tool for research and education. *Nucleic Acids Res*. 2016 Jan 4;44(D1):D1087-93. DOI: 10.1093/nar/gkv1278
10. Bazikov IA, Kulichenko AN, Kovalev DA, Binatova VV, Maltsev AN, Kalinkina NI, et al. Study of chemical composition of peptides as a part of niosomal drug "Regenerin". *Medical News of North Caucasus*. 2017;12(2):176-180. DOI: 10.14300/mnnc.2017.12049 (In Russian).
11. Diskaeva E, Vecher O, Diskaeva E, Bazikov I, Elbekyan K. Review of methods for size and morphology determination of vesicles in niosome dispersion. *Scientific and Technical Journal of Information Technologies, Mechanics and Optics*. 2020;20(3):377-81.
12. Vecher V, Diskaeva E, Bazikov I, Elbekyan K, Diskaeva E. Study of some rheological properties of niosomal dispersions of various concentrations based on PEG-12 dimethicone, 2020 *Adv. Nat. Sci: Nanosci. Nanotechnol.* 11 045007.
13. Bolatchiev A, Baturin V, Bazikov I, Maltsev A, Kunitsina E. Effect of antimicrobial peptides HNP-1 and hBD-1 on *Staphylococcus aureus* strains *in vitro* and *in vivo*. *Fundam Clin Pharmacol*. 2020 Feb;34(1):102-108. DOI: 10.1111/fcp.12499
14. Fjell CD, Hiss JA, Hancock RE, Schneider G. Designing antimicrobial peptides: form follows function. *Nat Rev Drug Discov*. 2011 Dec 16;11(1):37-51. DOI: 10.1038/nrd3591. Erratum in: *Nat Rev Drug Discov*. 2012 Feb;11(2):168.
15. Pasupuleti M, Schmidtchen A, Malmsten M. Antimicrobial peptides: key components of the innate immune system. *Crit Rev Biotechnol*. 2012 Jun;32(2):143-71. DOI: 10.3109/07388551.2011.594423
16. Wang G, Li X, Wang Z. APD3: the antimicrobial peptide database as a tool for research and education. *Nucleic Acids Res*. 2016 Jan 4;44(D1):D1087-93. DOI: 10.1093/nar/gkv1278

References

1. Sidorenko SV, Tishkov VI. Molekulyarnye osnovy rezistentnosti k antibiotikam. *Uspekhi biologicheskoi khimii*. 2004;44:263-306. (In Russian).
2. Wang C, Horby PW, Hayden FG, Gao GF. A novel coronavirus outbreak of global health concern. *Lancet*. 2020 Feb 15;395(10223):470-473. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30185-9. Epub 2020 Jan 24. Erratum in: *Lancet*. 2020 Jan 29.
3. Hassan M, Kjos M, Nes IF, Diep DB, Lotfipour F. Natural antimicrobial peptides from bacteria: characteristics and potential applications to fight against antibiotic resistance. *J Appl Microbiol*. 2012 Oct;113(4):723-36. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2012.05338.x
4. Wang G. Improved methods for classification, prediction, and design of antimicrobial peptides. *Methods Mol Biol*. 2015;1268:43-66. DOI: 10.1007/978-1-4939-2285-7_3
5. Andersson DI, Hughes D, Kubicek-Sutherland JZ. Mechanisms and consequences of bacterial resistance to antimicrobial peptides. *Drug Resist Updat*. 2016 May;26:43-57. DOI: 10.1016/j.drup.2016.04.002
6. Bazikov IA, Mal'tsev AN, Baturin VA, Ramesh KG, Nadzhirul AA, Efremenko AA. Method of isolation of natural antimicrobial peptides from leukocyte-erythrocyte-platelet blood mass. Patent for invention No 2729016 dated 08/04/2020. (In Russian).
7. Debnath A, Kumar A. Structural and Functional significance of Niosome and Proniosome in Drug Delivery System. *International Journal of Pharmacy and Engineering*. 2015;3: 621-637.
8. Rai A. Niosomes: An approach to current drug delivery – A Review. *International Journal of Advances in Pharmaceutics*. 2017;06:41-48.
9. Sunilkumar M. Niosomes As novel drug delivery system. *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Science*. 2015;5:1-7.

Информация об авторах:

Базиков Игорь Александрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет»
 Адрес: 355017, Ставрополь, ул. Мира, 310
 Телефон: (8652) 35-2475
 E-mail: bazikov@list.ru

Мальцев Александр Николаевич, кандидат биологических наук, научный сотрудник, заведующий лабораторией биологически активных веществ и нанотехнологий центра фармакологии, морфологии и биотехнологии научно-инновационного объединения «Ставропольский государственный медицинский университет»
 Адрес: 355017, Ставрополь, ул. Мира, 310
 Телефон: (8652) 74-8135

Рубайло Марина Витальевна, аспирант кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет»
 Адрес: 355017, Ставрополь, ул. Мира, 310
 Телефон: (8652) 35-2475
 E-mail: marina.rubailo@yandex.ru

Базиков Филипп Игоревич, студент магистратуры факультета науки и технологий Миланского государственного университета
 Адрес: г. Милан, Италия; 20122, ул. Festa del Perdono 7
 E-mail: philippbazikov@gmail.com

Information about authors:

Igor A. Bazikov, MD, PhD, DSc, Head of the Department of Microbiology, Stavropol State Medical University
 Address: 355017, 310 Mira str., Stavropol, 355017, Russian Federation
 Phone: (8652) 35-2475
 E-mail: bazikov@list.ru

Alexander N. Maltsev, PhD (Biological Sciences), Researcher, Head of the Laboratory of Biologically Active Substances and Nanotechnologies of the Center of Pharmacology, Morphology and Biotechnology of the Scientific and Innovative Association, Stavropol State Medical University
 Address: 310 Mira str., Stavropol, 355017, Russian Federation
 Phone: (8652) 35-2475

Marina V. Rubailo, postgraduate student of the Department of Microbiology, Stavropol State Medical University
 Address: 310 Mira str., Stavropol, 355017, Russian Federation
 Phone: (8652) 35-2475
 E-mail: marina.rubailo@yandex.ru

Philip I. Bazikov, Master's student, Faculty of Science and Technology, Milan State University
 Address: 7 Festa del Perdono str., Milan, 20122, Italy
 E-mail: philippbazikov@gmail.com

Использование радиационной стерилизации в производстве готовых к применению питательных сред

А.П.Шепелин, И.И.Марчихина, О.В.Полосенко, Л.П.Шолохова

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

Создание в России промышленного производства готовых к использованию питательных сред стандартного качества является весьма актуальной задачей. В ходе работы найдены пути решения: с одной стороны – обеспечение надежного бактерицидного действия на микрофлору, контаминирующую продукцию при стерилизующей дозе облучения, с другой – необходимость сохранения потребительских качеств продукции и ее упаковки.

Изучена возможность радиационной стерилизации готовых к применению питательных сред в упаковке и транспортной таре, экспериментально установлена минимальная эффективная стерилизующая доза облучения с сохранением биологических показателей питательных сред, доказана стерильность препаратов в течение срока годности.

Ключевые слова: радиационная стерилизация, питательные среды: среда КМАФАнМ, агар Сабуро, контаминация

Для цитирования: Шепелин А.П., Марчихина И.И., Полосенко О.В., Шолохова Л.П. Использование радиационной стерилизации в производстве готовых к применению питательных сред. Бактериология. 2021; 6(2): 27–31. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-2-27-31

Application of radiation sterilization in the production of ready-to-use nutrient media

A.P.Shepelin, I.I.Marchikhina, O.V.Polosenko, L.P.Sholokhova

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

The setting up a production of standard quality ready-to-use nutrient media in Russia is urgent. During the research, ways of solution were found. They imply ensuring a reliable bactericidal effect on the microflora contaminating products at a sterilizing radiation dose on one hand and preserving the consumer quality of the products and their packaging on the other.

The possibility of radiation sterilization of packed ready-to-use nutrient media and those in shipping containers was studied. The minimum effective sterilizing radiation dose allowing the maintenance of biological parameters of the nutrient media was experimentally determined and their sterility within their shelf life was confirmed.

Key words: radiation sterilization, nutrient media: KMAFAnM medium, Sabouraud agar, contamination

For citation: Shepelin A.P., Marchikhina I.I., Polosenko O.V., Sholokhova L.P. Application of radiation sterilization in the production of ready-to-use nutrient media. Bacteriology. 2021; 6(2): 27–31. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2021-2-27-31

В России насчитывается порядка 2000 медицинских учреждений с микробиологическими лабораториями, которые проводят более 200 млн микробиологических исследований с использованием питательных сред.

Бактериологические лаборатории страны широко применяют коммерческие сухие питательные среды, зарегистрированные в установленном порядке и обеспечивающие качество проводимых исследований в санитарной и клинической микробиологии, а также при проведении научных исследований.

В развитых странах с высоким уровнем медицинского обслуживания переходят на использование готовых к применению сред, изготовленных в промышленных условиях, на стандартном специально разработанном оборудовании. Контроль качества готовых сред в данном случае производится силами предприятия-изготовителя, что позволяет, в числе прочих преимуществ, минимизировать рутинную валидацию партий производимых вручную сред [1].

В России имеет место лишь небольшое промышленное производство готовых к применению питательных сред, и в

Для корреспонденции:

Шепелин Анатолий Прокопьевич, доктор биологических наук, заместитель директора ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24, ФБУН ГНЦ ПМБ

Телефон: (4967) 36-0020

E-mail: shepelin@obolensk.org

Статья поступила 20.08.2021 г., принята к печати 30.08.2021 г.

For correspondence:

Anatoly P. Shepelin, PhD, DSc (Biology Sciences), Deputy Director, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор

Address: SRCAMB, Bld. 24, Territory «Kvartal A», Obolensk, Serpukhov, 142279, Russian Federation

Phone: (4967) 36-0020

E-mail: shepelin@obolensk.org

The article was received 20.08.2021, accepted for publication 30.08.2021

связи с этим в страну поставляются импортные. Однако поставка готовых питательных сред из-за рубежа имеет недостатки, связанные с высокой стоимостью сред, длительной транспортировкой их в Россию и сложностью организации регулярных поставок.

Проблема создания в России промышленного производства готовых к использованию питательных сред стандартного качества является весьма актуальной.

Создание такого производства позволяет решать следующие задачи:

- обеспечение стандартного постоянного качества, гарантирующего единообразие методов диагностики и необходимое качество медицинского обслуживания населения;
- значительное расширение ассортимента готовых питательных сред на российском рынке;
- возможность усовершенствовать технологические карты лабораторий, избавляя лабораторный персонал от необходимости проведения длительного подготовительного этапа, предшествующего непосредственному бактериологическому исследованию;
- возможность импортозамещения российскими питательными средами, рецептура и номенклатура которых максимально адаптированы под российского потребителя.

В связи с этим в современной России, стремящейся к созданию высокотехнологичных микробиологических лабораторий, растет спрос на стерильные готовые питательные среды в пробирках, чашках Петри и контактных чашках Родека.

Появление в нашей стране в середине 1950х гг. экспериментальных радиационных установок создало условия для развертывания исследовательских работ по использованию ионизирующих излучений для радиационной стерилизации (РС) медицинской продукции. В 1960х гг. были определены области возможного применения радиационного метода стерилизации [2].

С началом ввода в эксплуатацию облучающих установок на основе радионуклидных источников и ускорителей электронов в промышленном производстве медицинских изделий широкое применение получила РС, основанная на радиационной обработке ионизирующим излучением. Стерилизующим агентом при РС является проникающее γ - или β - (электроны высоких энергий, получаемые в ускорителях) излучение. Наиболее широко используется γ -излучающий изотоп кобальта-60, реже – изотоп цезия-137, в связи с его низким уровнем энергии; источники, генерирующие β -излучение, используются реже, так как оно обладает гораздо меньшей проникающей способностью [3–5].

При правильном проведении РС является безопасным и надежным промышленным процессом.

Имеются данные о применении РС γ -облучением сухих питательных сред Эйкмана в индивидуальной упаковке для контроля водоисточников. Применение таких готовых расфасованных сред позволяет получать быстрые и надежные результаты в стационарных и передвижных лабораториях [6].

РС, ставшая одним из основных методов стерилизации термочувствительных медицинских изделий, обладает рядом технологических преимуществ. Основными достоинствами этого метода являются: высокая степень инактивации микроорганизмов; возможность стерилизации в боль-

ших объемах; автоматизация процесса; стерилизация изделий в любой герметичной упаковке и товарной таре, успешная борьба со споровыми формами микроорганизмов.

Перед облучением медицинских изделий разрабатывается инструкция по РС с указанием нормы, обеспечивающей качество и безопасность изделий: минимальное допустимое значение поглощенной дозы ионизирующего излучения (стерилизующая доза), обеспечивающее требуемый уровень стерильности при установленном предельном значении инициальной контаминации продукции, и максимальное допустимое значение поглощенной дозы, при которой отсутствует токсичность и сохраняются все функциональные свойства изделия в течение установленного срока годности изделия [3–5, 7–10].

Цель исследования – изучение возможностей РС, выбор дозы излучения для инактивации возможных микроорганизмов в среде, на упаковке и транспортной таре, разработка инструкции по РС питательных сред для предотвращения их возможной контаминации с поверхности упаковки и транспортной тары с целью сохранения биологических показателей и стерильности на протяжении гарантированного срока годности препаратов.

Материалы и методы

В работе использовались: питательная среда для выращивания дрожжевых и плесневых грибов (агар Сабуро), питательная среда для определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (среда КМАФАнМ), разлитые в чашки Петри и готовые к применению, транспортная среда Эймса (производства ФБУН ГНЦ ПМБ). Эксперименты по применению радиационной обработки испытуемых питательных сред были проведены на электронном ускорителе на производственной площадке ООО «Теклеор» (Калужская область).

Испытуемые среды подвергали радиационной обработке потоком ускоренных электронов с получением следующих поглощенных доз: 10, 13 и 15 кГр. В качестве контрольных служили питательные среды агар Сабуро и КМАФАнМ, не подвергавшиеся дополнительной стерилизации. Качество испытуемых питательных сред оценивали по физико-химическим и биологическим показателям на соответствие требованиям, заложенным в нормативной документации (НД) на каждый из препаратов.

Для биологического контроля питательных сред были использованы тест-штаммы микроорганизмов из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» – *Bacillus cereus* NCTC 8035 (ATCC 10702), *Staphylococcus aureus* 6538-P (FDA 209-P), *Enterobacter cloacae* ГИСК А-186, *Candida albicans* NCTC 885-653.

Результаты и обсуждение

Эффективность радиационной обработки зависит от общей поглощенной дозы излучения. Ускоренные электроны и γ -излучение не различаются по своей антимикробной активности, стерилизующие дозы для обработанных питательных сред для них одинаковы – 25 кГр [8]. Для различных

Таблица. Соответствие качества контрольных питательных сред требованиям НД				
Испытуемые питательные среды	Используемые поглощенные дозы потока ускоренных электронов, кГр			Без дополнительной стерилизации
	10	13	15	
Агар Сабуро, готовый к применению	Соответствует требованиям ТУ 20.59.52-259-78095326-2017 (рост тест-штаммов <i>C. albicans</i> NCTC 885-653, <i>S. aureus</i> ATCC 6538-P (FDA 209-P), <i>E. cloacae</i> ГИСК А-186 типичен)	Соответствует требованиям ТУ 20.59.52-259-78095326-2017 (рост тест-штаммов <i>C. albicans</i> NCTC 885-653, <i>S. aureus</i> ATCC 6538-P (FDA 209-P), <i>E. cloacae</i> ГИСК А-186 типичен)	Соответствует требованиям ТУ 20.59.52-259-78095326-2017 (рост тест-штаммов <i>C. albicans</i> NCTC 885-653, <i>S. aureus</i> ATCC 6538-P (FDA 209-P), <i>E. cloacae</i> ГИСК А-186 типичен)	Соответствует требованиям ТУ 20.59.52-259-78095326-2017 (рост тест-штаммов <i>C. albicans</i> NCTC 885-653, <i>S. aureus</i> ATCC 6538-P (FDA 209-P), <i>E. cloacae</i> ГИСК А-186 типичен)
Среда КМАФАНМ, готовая к применению	Соответствует требованиям ТУ 20.59.52-260-78095326-2017 (рост тест-штаммов <i>B. cereus</i> NCTC 8035 (ATCC 10702), <i>S. aureus</i> ATCC 6538-P (FDA 209-P), <i>E. cloacae</i> ГИСК А-186 типичен)	Не соответствует требованиям ТУ 20.59.52-260-78095326-2017, колонии <i>E. cloacae</i> ГИСК А-186 крупные, слизистые, расплывчатые	Не соответствует требованиям ТУ 20.59.52-260-78095326-2017, колонии <i>E. cloacae</i> ГИСК А-186 крупные, слизистые, расплывчатые	Соответствует требованиям ТУ 20.59.52-260-78095326-2017 (рост тест-штаммов <i>B. cereus</i> NCTC 8035 (ATCC 10702), <i>S. aureus</i> ATCC 6538-P (FDA 209-P), <i>E. cloacae</i> ГИСК А-186 типичен)

видов продукции и различных производств были установлены величины стерилизующих доз, находившиеся в диапазоне от 10 до 30 кГр и обеспечивающие отсутствие нестерильных единиц продукции в партии [2]. Продукция в упаковках или открытых контейнерах подается в камеру, где проходит обработку пучком электронов, длительность обработки составляет несколько минут при сохранении температурного режима. В результате поглощения энергии электронов происходит нехимическая антимикробная обработка, снижение микробной обсемененности, следовательно, увеличение сроков хранения.

Первый механизм – «прямой» – отвечает, по разным подсчетам, за 60–70% воздействия. Ускоренные электроны врезаются в ДНК бактериальной клетки. Поврежденная клетка перестает делиться, доживает свой цикл и погибает.

Второй механизм – окисление внутри продукта – отвечает за оставшиеся 30–40% работы. Свободные радикалы, активные и короткоживущие, «атакуют и добивают» ключевые компоненты клетки. Микроорганизмы погибают как внутри продукта, так и по всей поверхности упаковки.

Была проведена серия экспериментов для определения оптимальной дозы потока ускоренных электронов с последующим контролем стерильности испытуемых препаратов и транспортной упаковки, а также определения специфической активности питательных сред: агара Сабуро и среды КМАФАНМ. Для этого испытуемые питательные среды, разлитые в чашки Петри и упакованные, подвергали радиационной обработке потоком ускоренных электронов при следующих дозах: 10, 13 и 15 кГр, затем оценивали качество испытуемых питательных сред по физико-химическим и биологическим показателям на соответствие требованиям, заложенным в НД на каждый из препаратов в сравнении с контрольными питательными средами, не подвергавшимися дополнительной стерилизации. Результаты представлены в таблице.

Таким образом, экспериментально установлено, что поглощенные дозы потока ускоренных электронов в 13 и 15 кГр отрицательно сказываются на качестве питательных сред: на среде КМАФАНМ рост тест-штамма *E. cloacae* ГИСК А-186 через 18–24 ч инкубации при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ наблюдался в виде крупных, слизистых, расплывчатых колоний, что не соответствует требованиям, заложенным в ТУ на данный препарат и предъявляемым к средам аналогичного назначения.

С целью определения эффективности стерилизации готовых к применению питательных сред в транспортной упаковке потоком ускоренных электронов проведена серия экспериментов с использованием транспортной среды Эймса. Для этого были взяты смывы с рук и спецодежды сотрудников, работающих на автоматической средоварке Masterclave 528 или Masterclave 09 и автоматическом модуле для розлива сред Petriswiss PS900 или APS320, и помещены в пробирки с транспортной средой Эймса. Также были произведены смывы с внутренних поверхностей полиэтиленовых пакетов и картонных коробок (транспортной упаковки питательных сред, готовых к применению). Пробирки были подвергнуты стерилизации потоком ускоренных электронов с дозами 10, 13 и 15 кГр. Затем из каждой пробирки был произведен высев на питательную среду КМАФАНМ, питательную среду агар Сабуро для подсчета общего числа выросших бактерий и грибов при анализе микробной загрязненности объектов. Результаты эффективности РС учитывали после инкубации высева в стандартных условиях. Контролем служила питательная среда Эймса с посевами, не прошедшая стерилизацию потоком ускоренных электронов.

В результате проведенных исследований показана эффективность минимальной для стерилизации питательных сред поглощенной дозы облучения 10 кГр. Все пробирки со смывами после радиационной обработки не содержали жизнеспособных микроорганизмов, в то время как после высева из контрольных пробирок со средой Эймса наблюдался бактериальный рост.

В результате проведенных исследований доказана эффективность радиационной обработки питательных сред, определена оптимальная стерилизующая доза облучения (10 кГр), при которой сохраняются физико-химические и биологические свойства питательных сред. Следовательно, для обеспечения стерильности питательных сред, готовых к применению, в индивидуальной, групповой и транспортной упаковке может быть рекомендована радиационная стерилизация.

Выводы

Экспериментально установлена оптимальная стерилизующая доза облучения в 10 кГр потока ускоренных электронов для готовых к применению питательных сред в транс-

портной упаковке, не оказывающая отрицательного воздействия на их качество, минимизирующая контаминацию извне и дающая 100%-ю гарантию стерильности с сохранением их качества по ростовым и физико-химическим показателям в течение срока годности.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Financial support

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

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

1. ГОСТ ISO 11133-2016. Микробиология пищевых продуктов, кормов для животных и воды. Приготовление, производство, хранение и определение рабочих характеристик питательных сред: межгосударственный стандарт: издание официальное: введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию метрологии от 7 ноября 2016 г. №1605-ст: дата введения 2017-07-01. Подготовлен ОАО «Всероссийский научно-исследовательский институт сертификации». М.: Стандартинформ; 2016, 95 с.
2. Гордеев АЮ, и др. Освоение в стране радиационного метода стерилизации продукции медицинского назначения. Сборник статей, посвященных 70-летию Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр Российской Федерации Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И.Бурназяна» (1946–2016 гг.). Под общей редакцией Ильина ЛА, Уйба ВВ, Самойлова АС. М.: ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России; 2016, с. 285-292.
3. Калашников ВВ, Гордеев АВ, Павлов ЕП, Бушманов АЮ. Разработка и применение метода радиационной стерилизации в Федеральном медицинском биофизическом центре им. А.И.Бурназяна. Саратовский научно-медицинский журнал. 2014;10(4):844-9.
4. Калашников ВВ, Павлов ЕП, Самойленко ИИ, Бушманов АЮ, Корсунский ВН. Качество радиационной стерилизации изделий медицинского назначения. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2012;57(4):40-45.
5. Драбкин ЮА, и др. Оптимизация режима радиационной стерилизации медицинской продукции в современных условиях. Вопросы атомной науки и техники. Серия: Техническая физика и автоматизация. 2004;58:132-134.
6. Полосенко ОВ. Разработка питательных сред для индикации санитарно-показательных микроорганизмов. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии. Оболенск, 2009, 141 с.
7. ГОСТ ISO 11137-1-2011. Стерилизация медицинской продукции. Радиационная стерилизация. Часть 1. Требования к разработке, валидации и текущему контролю процесса стерилизации медицинских изделий. Межгосударственный стандарт. Издание официальное. Введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию метрологии от 13 декабря 2011 г. №1279-ст: введен впервые: дата введения 2013-01-01. Подготовлен ФГУП Всероссийский научно-исследовательский институт стандартизации и сертификации в машиностроении. М.: Стандартинформ; 2013, 30 с.
8. ГОСТ ISO 11737-1-2012. Стерилизация медицинских изделий. Микробиологические методы. Часть 1. Оценка популяции микроорганизмов

на продукции. Межгосударственный стандарт. Введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию метрологии от 19 декабря 2012 г. №1922-ст. Дата введения 2015-01-01. Подготовлен ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт стандартизации и сертификации в машиностроении». М.: Стандартинформ; 2014, 41 с.

9. ГОСТ ISO 11137-2-2011. Стерилизация медицинской продукции. Радиационная стерилизация. Часть 2. Установление стерилизующей дозы. Межгосударственный стандарт. Издание официальное. Введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию метрологии от 13 декабря 2011 г. №1279-ст. Дата введения 2013-01-01. Подготовлен ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт стандартизации и сертификации в машиностроении». М.: Стандартинформ; 2013, 145 с.
10. ГОСТ ISO 11737-2-2011. Стерилизация медицинских изделий. Микробиологические методы. Часть 2. Испытания на стерильность, проводимые при валидации процессов стерилизации. Межгосударственный стандарт. Издание официальное. Введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию метрологии от 13 декабря 2011 г. №1277. Дата введения 2013-01-01. Подготовлен ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт стандартизации и сертификации в машиностроении». М.: Стандартинформ; 2013, 19 с.

References

1. GOST ISO 11133-2016. Microbiology of food, animal feed, and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media: interstate standard: official edition: put into effect by the Order of the Federal Agency for Technical Regulation of Metrology No 1605-st dated November 7, 2016: date of introduction 2017-07-01. Prepared by JSC All-Russian Research Institute of Certification. Moscow: Standardinform, 2016, 95 p. (In Russian).
2. Gordeev AYU, et al. Development of Radiation Sterilization Method for Medical Products in the Country. Proceedings dedicated to the 70th anniversary of the Federal State Budgetary Institution "A.I.Burnazyan State Research Center of the Russian Federation Federal Medical Biophysical Center" (1946-2016). Edited by Ilyin LA, Uiba VV, Samoilov AS. Moscow, 2016, pp. 285-292. (In Russian).
3. Kalashnikov VV, Gordeev AV, Pavlov EP, Bushmanov AYU. Development and application of radiation sterilization method in A.I.Burnazyan Federal Medical and Biophysical Centre. Saratov Journal of Medical Scientific Research. 2014;10(4):844-9. (In Russian).
4. Kalashnikov VV, Pavlov EP, Samoylenko II, Bushmanov AYU, Korsunsky VN. The quality of radiation sterilization of medical products. Medical Radiology And Radiation Safety. 2012;57(4):40-45. (In Russian).
5. Drabkin YuA, et al. Optimization of the radiation sterilization regimen of medical products in modern conditions. Voprosy atomnoj nauki i tekhniki. Seriya: Tekhnicheskaya fizika i avtomatizaciya. 2004;58:132-134. (In Russian).
6. Polosenko OV. Development of nutrient media for the indication of sanitary-indicative microorganisms. Dissertation for PhD (Biol) degree. State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology. Obolensk, 2009, 141 p. (In Russian).
7. GOST ISO 11137-1-2011. Sterilization of medical products. Radiation sterilization. Part 1. Requirements for the development, validation and current control of the sterilization process of medical devices: interstate standard. Official publication. Put into effect by Order of the Federal Agency for Technical Regulation of Metrology No 1279-st of December 13, 2011. Introduced for the first time: date of introduction 2013-01-01. Prepared by the Federal State Unitary Enterprise All-Russian Research Institute for Standardization and Certification in Mechanical Engineering. Moscow: Standardinform, 2013, 30 p. (In Russian).
8. GOST ISO 11737-1-2012. Sterilization of medical devices. Microbiological methods. Part 1. Estimation of population of microorganisms on product. Official

publication. Put into effect by Order of the Federal Agency for Technical Regulation of Metrology dated December 19, 2012 No 1922-st. Date of introduction 2015-01-01. Prepared by the Federal State Unitary Enterprise All-Russian Research Institute for Standardization and Certification in Mechanical Engineering. Moscow: Standardinform; 20146 41 p. (In Russian).

9. GOST ISO 11137-2-2011. Sterilization of health care products. Radiation. Part 2. Establishing the sterilization dose. Official publication. Put into effect by Order of the Federal Agency for Technical Regulation of Metrology dated December 13, 2011 No 1279-st. Date of introduction 2013-01-01. Prepared by the Federal State Unitary Enterprise All-Russian Research Institute for Standardization and Certification in Mechanical Engineering. Moscow: Standardinform; 2013, 145 p. (In Russian).
10. GOST ISO 11737-2-2011. Sterilization of medical devices. Microbiological methods. Part 2. Tests of sterility performed in the validation of a sterilization process. Interstate standard. Official publication. Put into effect by Order of the Federal Agency for Technical Regulation of Metrology No 1277 of December 13, 2011. Date of introduction 2013-01-01. Prepared by the Federal State Unitary Enterprise All-Russian Research Institute for Standardization and Certification in Mechanical Engineering. Moscow: Standardinform; 2013, 19 p. (In Russian).

Информация об авторах:

Марчихина Ирина Ивановна, заведующая лабораторией микробиологических и физико-химических методов анализа НПО ПС ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24, ФБУН ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 36-0020
E-mail: marchikhina@obolensk.org

Полосенко Ольга Вадимовна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник сектора микробиологических исследований ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24, ФБУН ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 36-0003
E-mail: polosenko@obolensk.org

Шолохова Любовь Петровна, заведующая сектором подготовки тест-штаммов НПО ПС ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 36-0017
E-mail: sholohovalp@obolensk.org

Information about authors:

Irina I. Marchikhina, Head of the Laboratory of Microbiological and Physico-Chemical Methods of Analysis, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор
Address: SRCAMB, Bld. 24, Territory «Kvartal A», Obolensk, Serpukhov, 142279, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0020
E-mail: marchikhina@obolensk.org

Olga V. Polosenko, PhD (Biology Sciences), Leading researcher of the Microbiological Research Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор
Address: SRCAMB, Bld. 24, Territory «Kvartal A», Obolensk, Serpukhov, 142279, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0003
E-mail: polosenko@obolensk.org

Lyubov P. Sholokhova, Head of the Test Strain Preparation Sector, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор
Address: SRCAMB, Bld. 24, Territory «Kvartal A», Obolensk, Serpukhov, 142279, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0020
E-mail: sholohovalp@obolensk.org

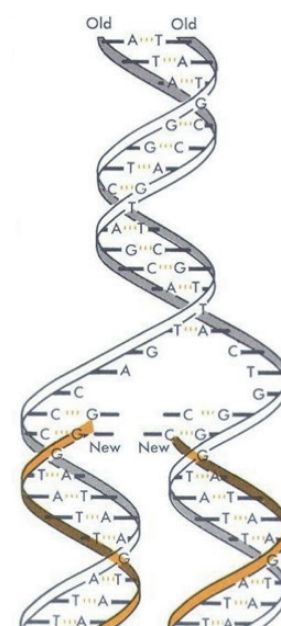
НОВОСТИ НАУКИ

Бактериальную ДНК можно читать вперед или назад: исследование

Транскрипция инициируется на промоторах, участках ДНК, распознаваемых ДНК-зависимой РНК-полимеразой. Ранее мы идентифицировали горизонтально приобретенные промоторы *Escherichia coli*, направление транскрипции которых было неясным. В настоящем исследовании мы показываем, что более половины этих промоторов являются двунаправленными и управляют дивергентной транскрипцией. Используя подходы в масштабе генома, мы демонстрируем, что 19% всех сайтов начала транскрипции, обнаруженных в *E. coli*, связаны с двунаправленным промотором. Двунаправленные промоторы одинаково распространены у различных бактерий и архей и обладают внутренней симметрией: специфические основания, необходимые для инициации транскрипции, взаимно совмещены на противоположных цепях ДНК. Двунаправленные промоторы обеспечивают совместную регуляцию дивергентных генов и обогащены как в межгенных, так и в горизонтально приобретенных областях. Дивергентная транскрипция сохраняется у бактерий, архей и эукариот, но лежащие в основе механизмы двунаправленности различны.

Хотя текущее исследование сосредоточено в основном на бактериях, исследователи предполагают, что симметрия указателя, вероятно, будет обнаружена и у людей, животных и других организмов. Следующим шагом исследования будет изучение явления в дрожжевых клетках, которые больше напоминают клетки человека.

Понимание того, как считываются гены, является фундаментальным для многих областей биотехнологии. Многие лекарства, например, зависят от способности контролировать процесс считывания генов, поэтому важно полностью понимать, как работают эти сигналы и как мы можем использовать эти знания для улучшения здравоохранения.



Warman EA, Forrest D, Guest T, et al.

Widespread divergent transcription from bacterial and archaeal promoters is a consequence of DNA-sequence symmetry. *Nat Microbiol.* 2021;6:746-756. <https://doi.org/10.1038/s41564-021-00898-9>

Сравнительный анализ питательных сред отечественных и зарубежных производителей для выделения кампилобактерий

А.А.Кремлева¹, Ю.А.Скоморина¹, Л.Ш.Ахметова¹, Т.В.Подольская¹, А.П.Шепелин², О.В.Полосенко²

¹ФГБУ «Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория», Москва, Российская Федерация;

²ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболонск, Московская область, Российская Федерация

Проведены сравнительные исследования качества питательных сред для выделения кампилобактерий по микробиологическим показателям с использованием тест-штаммов: *Campylobacter jejuni* ATCC 29428, *Campylobacter coli* ATCC 33559, *Campylobacter fetus* ATCC 27374, *Campylobacter lari* ATCC 35221. В работе оценивались производительность, селективность и специфичность испытываемых питательных сред. Качество отечественных питательных сред «Кампилобакагар» и «Основа железо-эритрит-кровяного агара для выделения кампилобактерий (Основа ЖЭКА)» наряду с импортными, отвечает современным требованиям при диагностике кампилобактериоза животных.

Ключевые слова: кампилобактериоз, *Campylobacter fetus*, питательные среды, кампилобакагар, основа ЖЭКА

Для цитирования: Кремлева А.А., Скоморина Ю.А., Ахметова Л.Ш., Подольская Т.В., Шепелин А.П., Полосенко О.В. Сравнительный анализ питательных сред отечественных и зарубежных производителей для выделения кампилобактерий. Бактериология. 2021; 6(2): 32–37. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-2-32-37

Comparative analysis of medium for isolation of *Campylobacter* spp. of domestic and foreign producers

A.A.Kremleva¹, Yu.A.Skomorina¹, L.Sh.Akhmetova¹, T.V.Podolskaya¹, A.P.Shepelin², O.V.Polosenko²

¹Central Scientific and Methodological Veterinary Laboratory, Moscow, Russian Federation;

²State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

Comparative studies of the quality of culture media by microbiological indicators for *Campylobacter* were carried out on the reference test strains: *Campylobacter jejuni* ATCC 29428, *Campylobacter coli* ATCC 33559, *Campylobacter fetus* ATCC 27374, *Campylobacter lari* ATCC 35221. There were evaluated the productivity, selectivity and specificity of the tested culture media. The quality of domestic nutrient media «Campylobacter agar» and the «Base of iron-erythritol-blood agar for the isolation of *Campylobacter* spp. (base ZhEKA)», along with imported ones, meets modern requirements for the diagnosis of campylobacteriosis in animals.

Key words: campylobacteriosis, *Campylobacter fetus*, culture media, *Campylobacter* agar, base ZhEKA

For citation: Kremleva A.A., Skomorina Yu.A., Akhmetova L.Sh., Podolskaya T.V., Shepelin A.P., Polosenko O.V. Comparative analysis of medium for isolation of *Campylobacter* spp. of domestic and foreign producers. Bacteriology. 2021; 6(2): 32–37. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2021-2-32-37

Кампилобактериоз – инфекционная болезнь животных, птиц и человека, вызываемая патогенными микроорганизмами рода *Campylobacter*. Заболевание широко распространено в странах Европы, Азии, Северной, Центральной, Южной Америки, Австралии и Африке [1, 2].

Важнейший источник возбудителей кампилобактериоза для человека – промышленная птица, которая является естественным резервуаром *Campylobacter* spp. в природе. При этом передача возбудителя людям происходит при об-

работке и употреблении мяса птицы. Наибольшую эпидемиологическую значимость представляют *C. jejuni*, которые обуславливают до 90% подтвержденных лабораторных случаев пищевого кампилобактериоза у людей [1–3].

Основным резервуаром и источником кампилобактериоза являются крупный и мелкий рогатый скот (КРС, МРС). Кампилобактериоз у КРС протекает в форме венерического заболевания (генитальный кампилобактериоз). Этиологическим агентом кампилобактериоза у КРС наиболее часто

Для корреспонденции:

Кремлева Анна Александровна, научный сотрудник
ФГБУ «Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория»

Адрес: 111622, Москва, ул. Оранжерейная, 23

Телефон: (495) 700-0137

E-mail: viktoriya1409@yandex.ru

Статья поступила 20.08.2021 г., принята к печати 30.08.2021 г.

For correspondence:

Anna A. Kremleva, Researcher, Central Scientific
and Methodological Veterinary Laboratory

Address: 23 Oranzhereynaya str., Moscow, 111622, Russian Federation

Phone: (495) 700-0137

E-mail: viktoriya1409@yandex.ru

The article was received 20.08.2021, accepted for publication 30.08.2021

выступает *C. fetus* subsp. *fetus* (далее – *C.f.s.fetus*) и *C. fetus* subsp. *venerealis* (далее – *C.f.s.venerealis*), *C. jejuni*, у овец – *C.f.s.fetus* и *C. jejuni*. Кампилобактериоз КРС/МРС становится причиной бесплодия, ранней гибели эмбрионов и абортов, что приводит к существенным экономическим потерям. Инфекции *C.f.s.fetus* у КРС также ассоциируются с абортами, но встречаются намного реже [4, 5].

Частота обнаружения кампилобактерий у клинически здоровых сельскохозяйственных животных и домашней птицы, а также в продукции животноводства свидетельствует о существенном распространении этих зоонозных патогенов, в том числе о контаминации пищевых продуктов и воды [4].

В отечественной нормативно-методической базе имеется ряд методических документов, регламентирующих обнаружение и выделение возбудителей кампилобактериоза животных [6, 7]. Поскольку в 2020 г. на основании приказа Министерства сельского хозяйства РФ №246 от 30.04.2020 отменена «Инструкция о мероприятиях по профилактике и оздоровлению крупного рогатого скота и овец от кампилобактериоза», в настоящее время на территории РФ отсутствует нормативный документ, регламентирующий метод выделения возбудителей кампилобактериоза КРС/МРС – *C.f.s.fetus* и *C.f.s.venerealis*.

Бактериологический метод является основным, так как только выделение возбудителя дает право устанавливать диагноз [5]. Диагностика кампилобактериоза животных, в первую очередь, предполагает выделение возбудителя из препуциальной слизи и секрета придаточных половых желез, фекалий, абортированных плодов, отходов инкубации, трупов цыплят [5].

Бактериологическое исследование животных на кампилобактериоз предполагает использование следующих питательных сред лабораторного приготовления: сердечно-печеночный пептонный агар с добавлением 1–2% желчи КРС, 5–10% дефибрированной крови овец и бриллиантовой зелени 1:40 000; сафранино-железо-новобиоциновая среда. Из числа сухих коммерческих сред используются селективный кровяной эритрит-агар с FBR-добавкой, кампилобакагар (производства ГНЦ ПМБ) [7].

Для исследования стерильного материала допускается применение неселективных питательных сред: среды Китта-Тароцци, среды Мартена, полужидкого мясо-печеночного пептонного 0,15–0,20%-го агара (ПЖА), мясо-печеночного пептонного 2–3%-го агара, кровяного эритрит-агара с FBR-добавкой. Культивирование посевов из препуциальной и вагинальной слизи, фекалий КРС ветеринарные лаборатории РФ проводят, как правило, с использованием ПЖА [7].

Успешное культивирование кампилобактеров требует особых условий: наличия герметичной емкости для создания условий культивирования (микроанаэростат); газовой смеси определенного состава (5% кислорода, 10% углекислого газа и 85% азота); питательных сред с высоким индексом аминного азота, содержащих или не содержащих селективные добавки.

В настоящее время для диагностики кампилобактериоза методом микробиологического посева во всем мире используют различные сухие питательные среды. Селективные среды для выделения кампилобактерий можно разделить на две группы: среды, требующие внесения крови (кампилоба-

кагар, агар Престона, агар Скирроу, агар Бацлера и др.), и среды, содержащие активный уголь (mCCDA, агар Кармали). Активный уголь вносят в питательные среды с целью удаления токсичных производных кислорода. Основное различие между такими питательными средами заключается в подавляющем эффекте различных ингибиторов на нежелательные сопутствующие микроорганизмы.

Селективность сред определяется используемыми добавками антибиотиков. Используют цефалоспорины (как правило, цефоперазон), в некоторых случаях в комбинации с другими антибиотиками (ванкомицином, триметопримом, амфотерицином В и др). [2, 3, 7].

Для бактериальной диагностики *Campylobacter* spp. существует широкий выбор питательных сред, однако не все среды, предназначенные для бактерий рода *Campylobacter*, подходят для выделения *C. fetus* из-за наличия в составах питательных сред антимикробных препаратов (например, цефалоспоринов), подавляющих рост *C. fetus*.

В соответствии с методикой бактериологической диагностики кампилобактериоза животных для обнаружения кампилобактерий в материале с высокой степенью обсемененности также используется метод фильтров. Такой метод может быть использован как для прямого посева материала, поступившего для исследований, так и для высева из сред накопления или консерванта. Метод менее чувствителен по сравнению с традиционным, при котором используются селективные среды. Для проведения исследований используются фильтры двух типов: из ацетата целлюлозы и ядерные [7]. Данный метод посева позволяет использовать питательные среды без антибиотиков и основан на высокой подвижности и опережающей способности кампилобактерий проходить через поры фильтров из ацетата или нитрата целлюлозы диаметром 0,4–0,8 мкм. Метод фильтрации позволяет избежать использования селективных добавок (цефалотин), ингибирующих рост многих редких видов кампилобактерий (*C. upsaliensis*, *C. hyointestinalis*, *C. fetus* и некоторые подвиды *C. jejuni*) [7, 8].

В ФБУН ГНЦ ПМБ разработаны питательные среды для выделения *Campylobacter* spp. – «Кампилобакагар» и «Основа железо-эритрит-кровяного агара сухая (Основа ЖЭКА)» на основе отечественных белковых компонентов и добавок, позволяющих поддерживать рост требовательных мезофильных кампилобактерий и ингибировать рост сопутствующих бактерий.

Цель исследования – сравнительное изучение эффективности питательных сред различных производителей для выделения кампилобактерий в ветеринарной практике.

Материалы и методы

В работе использованы питательные среды для выделения кампилобактерий: Columbia agar blood base (HiMedia) (для приготовления кровяного агара на основе Columbia agar blood base использовали кровь баранью Defibrinated Sheep Blood) с добавками *Campylobacter* Growth и *Campylobacter* Supplement-III (Skirrow); питательная среда с углем mCCD (Modified charcoal cefoperazone deoxycholate) agar (base) (Merck); отечественные питательные среды: Кампилобакагар и новая питательная среда – Основа железо-эритрит-квя-

Таблица. Сравнительная характеристика питательных сред для выделения кампилобактерий по биологическим показателям (температура культивирования 42°C)*

Наименование среды	Тест-штаммы, морфология колоний					
	<i>C. lari</i> ATCC 35221	<i>C. coli</i> ATCC 33559	<i>C. jejuni</i> ATCC 29428	<i>C. fetus</i> ATCC 27374**)	<i>C. albicans</i> 10231	<i>E. coli</i> 25922
1 Columbia agar blood base + селективная добавка Campylobacter Growth Supplement (для <i>C. fetus</i>) Columbia agar blood base + добавка для кампилобактерий-III Campylobacter Supplement-III (Skirrow)	Колонии размером 1–2 мм, полупрозрачные, гладкие, матовые с ровными краями	Колонии размером 1–3 мм, полупрозрачные, гладкие, матовые с ровными краями	Колонии размером 1–2 мм, полупрозрачные, гладкие, матовые с ровными краями	Колонии размером 2–5 мм, полупрозрачные, матовые с неровным краем	Отсутствие роста	Отсутствие роста
2 Среда mCCD + добавка CCDA Selective Supplement	Мелкие, дискретные, блестящие, выпуклые, округлые, диаметром 1–2 мм	Мелкие, дискретные, блестящие, выпуклые, округлые, диаметром 1–2 мм	Мелкие, дискретные, блестящие, выпуклые, округлые, диаметром 1–2 мм	Скудный рост	Отсутствие роста	Отсутствие роста
3 Капмилобакагар	Колонии размером 1–2 мм, полупрозрачные, гладкие, блестящие с ровными краями	Колонии размером 2–4 мм, полупрозрачные, серо-белого цвета, матовые с неровным краем	Колонии размером 1–3 мм, полупрозрачные, гладкие, блестящие с ровными краями	Колонии размером 1–2 мм, полупрозрачные, гладкие, блестящие с ровными краями	Отсутствие роста	Отсутствие роста
4 Основа ЖЭКА + селективная и аэротолерантная добавка	Колонии размером 1–2 мм, полупрозрачные, гладкие, блестящие с ровными краями	Колонии размером 2–5 мм, полупрозрачные, серо-белого цвета, матовые с неровным краем	Колонии размером 1–3 мм, полупрозрачные, гладкие, блестящие с ровными краями	Колонии размером 2–5 мм, полупрозрачные, гладкие, блестящие с ровными краями	Отсутствие роста	Отсутствие роста
5 Среда Престона	Плоские, серые выпуклые и округлые, от 1 до 4 мм	Плоские, серые, выпуклые и округлые, от 1 до 4 мм	Плоские, серые, выпуклые и округлые, от 1 до 4 мм	Плоские, серые, с неровным краем, от 1 до 4 мм	Наличие роста	Наличие роста
6 ПЖА	Рост у поверхности среды в виде серовато-голубоватого диска толщиной от 1 до 4 мм	Рост у поверхности среды в виде серовато-голубоватого диска толщиной от 1 до 4 мм	Рост у поверхности среды в виде серовато-голубоватого диска толщиной от 1 до 4 мм	Рост у поверхности среды в виде серовато-голубоватого диска толщиной от 1 до 4 мм	Наличие роста-рост в толще среды	Наличие роста-рост в толще среды
7 Триптон-соевый агар	Рост отсутствует	Рост отсутствует	Рост отсутствует	Рост отсутствует	Наличие роста***	Наличие роста***

*результаты биологических показателей по росту тест-штаммов *C. lari* ATCC 35221, *C. coli* ATCC 33559, *C. jejuni* ATCC 29428 при температуре культивирования 37°C аналогичны;
 **результаты биологических показателей по росту тест-штамма *C. fetus* ATCC 27374 при температуре культивирования 37°C;
 ***результаты биологических показателей по росту тест-штаммов *C. albicans* 10231, *E. coli* 25922 в аэробных условиях при температуре 37°C.

ного агара для выделения кампилобактерий сухая (Основа ЖЭКА) (производства ФБУН ГНЦ ПМБ) с добавлением бараньей крови; неселективные среды лабораторного приготовления: Престона с внесением бараньей крови, ПЖА. В качестве контрольной питательной среды для культивирования и подсчета микробов-ассоциантов использовали триптон-соевый агар (производства ФБУН ГНЦ ПМБ). Подготовку вышеуказанных питательных сред к исследованиям проводили в соответствии с инструкциями по применению.

В качестве алгоритмов исследований были приняты процедуры, описанные в действующих нормативных документах. При определении производительности, специфичности и селективности использовали стандартизованный метод штрихового посева [9–11].

Для контроля качества питательных сред по микробиологическим показателям использовали эталонные тест-штаммы, полученные из государственной коллекции патогенных микроорганизмов Thermo scientific USA: *C. jejuni*

ATCC 29428, *C. coli* ATCC 33559, *C. fetus* ATCC 27374, *C. lari* ATCC 35221. В качестве микробов-ассоциантов использовались тест-штаммы *Candida albicans* 10231 и *Escherichia coli* 25922. Соответствующие микроаэрофильные условия обеспечивали при помощи газогенерирующих пакетов Anaerocult-C фирмы Merk в анаэроstate.

Результаты и обсуждение

Были изучены эксплуатационные критерии питательных сред и культурально-морфологические свойства тест-штаммов кампилобактерий, выращенных на испытуемых средах. Изучены основные наборы селективных и аэротолерантных добавок для питательных сред, их влияние на рост тест-штаммов кампилобактерий и ингибирующие свойства по отношению к микробам-ассоциантам. В процессе исследований проверено сохранение биологических свойств питательных сред.

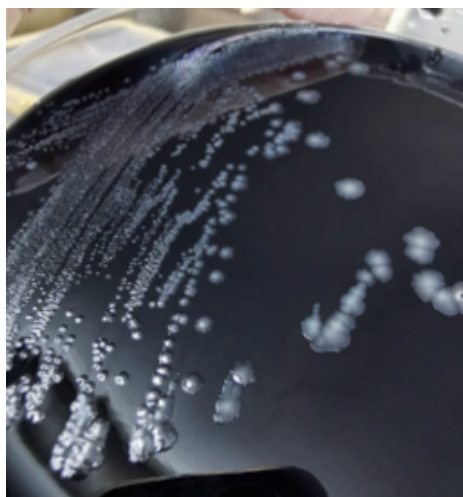


Рис. 1. Рост тест-штамма *C. lari* на среде mCCD.

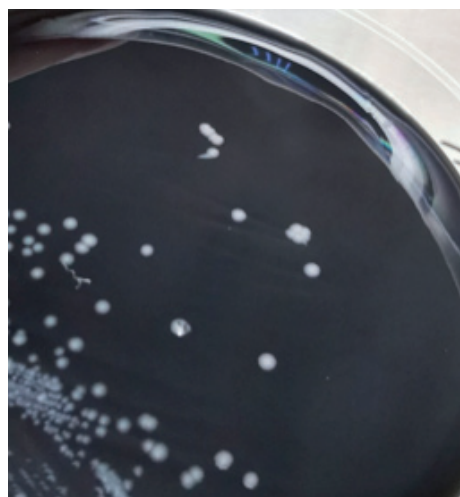


Рис. 2. Рост тест-штамма *C. lari* ATCC 35221 на среде mCCD.



Рис. 3. Рост тест-штамма *C. coli* ATCC 33559 на среде Основа ЖЭКА.

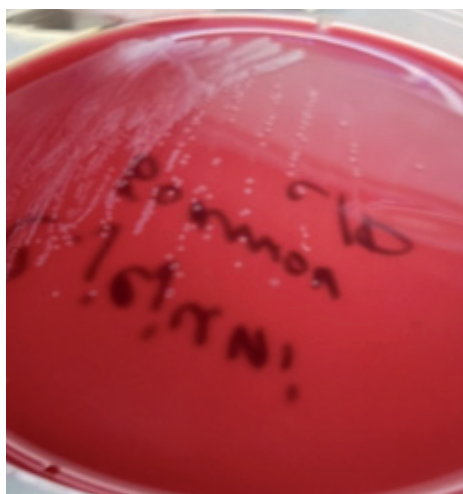


Рис. 4. Рост тест-штамма *C. jejuni* ATCC 29428 на среде Columbia agar blood base.



Рис. 5. Рост тест-штамма *C. jejuni* ATCC 29428 на среде Основа ЖЭКА.

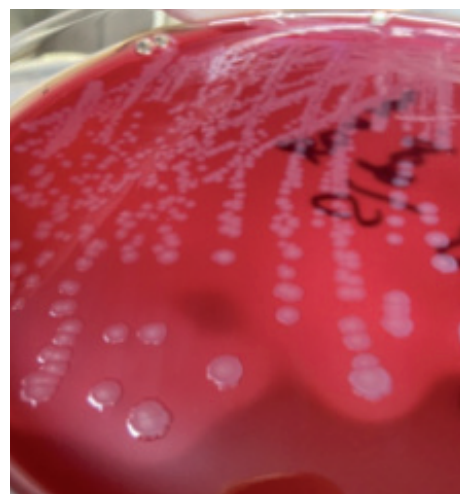


Рис. 6. Рост тест-штамма *C. fetus* ATCC 27374 на среде Columbia agar blood base.

Посевы инкубировали при 43°C и 37°C в течение 48–72 ч в микроаэрофильной атмосфере [12]. Повышенная температура культивирования 43°C обеспечивала дополнительный селективный эффект, тем самым упрощая последующую идентификацию возбудителя кампилобактериоза.

На кровяной питательной среде Columbia agar blood base с добавкой *Campylobacter Growth Supplement*, состоящей из натрия пирувата, натрия метабисульфита и железа сульфата, тест-штаммы *C. lari* ATCC 35221, *C. coli* ATCC 33559, *C. jejuni* ATCC 29428 росли в виде полупрозрачных, гладких, матовых с ровными краями колонии размером 1–2 мм. Тест-штамм *C. fetus* ATCC 27374 по морфологии отличался: имел колонии большего диаметра с неровными краями.

Среда mCCD обеспечивала рост тест-штаммов *C. lari* ATCC 35221, *C. coli* ATCC 33559, *C. jejuni* ATCC 29428 в виде мелких, дискретных, блестящих выпуклых округлых колоний диаметром 1–2 мм. Рост *C. fetus* ATCC 27374 наблюдался слабый. Вносимая селективная добавка содержала смесь двух антибиотиков в лиофилизированном виде: амфотерицина, ингибирующего рост дрожжей и плесневых грибов, и цефоперазона, ингибирующего рост энтеробактерий.

Для ЖЭКА была использована комбинация из 5 антибиотиков (полимиксина В сульфат, амфотерицин В, рифампицин, триметоприм и ванкомицин), позволяющая выделять кампилобактерии и полностью ингибировать сопутствующую микрофлору. Пептон ферментативный и панкреатический гидролизат рыбной муки, входящие в состав Основы ЖЭКА, а также вносимая дефибрированная баранья кровь являются источниками питательных веществ, необходимых для роста микроорганизмов: азота, витаминов, минеральных солей и аминокислот. Добавка в виде метабисульфита натрия, натрия пировинограднокислого и железа (II) сернокислого повышает аэротолерантность кампилобактерий и снижает редокс-потенциал приготовленной среды.

Среда ЖЭКА с кровью обеспечивала рост *C. lari* ATCC 35221, *C. jejuni* ATCC 29428 в виде круглых, полупрозрачных с сероватым оттенком, гладких, влажных, блестящих колоний. Колонии тест-штамма *C. coli* ATCC 33559 – плоские, полупрозрачные, матовые, с краями неправильной формы, размером 2–5 мм, имели больший диаметр по сравнению с другими тест-штаммами кампилобактерий. *C. fetus* ATCC 27374 – полупрозрачные, гладкие, блестящие с ровными краями крупные колонии.

Кампилобакагар (производства ГНЦ ПМБ) – среда для культивирования и выделения кампилобактерий отечественного производства, предназначенная для культивирования и выделения бактерий рода *Campylobacter* из пищевых продуктов, мяса, мяса птицы, субпродуктов, полуфабрикатов, кормов для животных, воды различных водоемов и других объектов при санитарно-бактериологических исследованиях.

Среда с внесенной кровью обеспечивала рост *C. lari* ATCC 35221, *C. jejuni* ATCC 29428 в виде круглых, полупрозрачных с сероватым оттенком, гладких, влажных, блестящих колоний. Колонии тест-штамма *C. coli* ATCC 33559 – плоские, полупрозрачные, матовые, с краями неправильной формы, размером 2–4 мм, тест-штамма *C. fetus* ATCC 27374 – гладкие, блестящие с ровными краями, меньшего диаметра (до 2 мм).

Среда Престона в данном исследовании являлась контрольной средой, позволяющей оценить посевную дозу используемых в работе тест-штаммов. [11].

На ПЖА через 2–7 суток наблюдался рост кампилобактерий в верхней части поверхности среды в пробирке в виде серовато-голубоватого диска толщиной от 1 до 4 мм. За счет отсутствия ингибиторов ПЖА не ингибировал рост посторонней микрофлоры.

Интерпретация результатов осуществлялась по интенсивности роста тест-штаммов на питательных средах (морфологическая оценка / наличие / отсутствие роста).

Результаты биологического контроля качества всех питательных сред представлены в таблице.

Рост некоторых тест-штаммов кампилобактерий на различных питательных средах наглядно продемонстрирован на рис. 1–6.

Поскольку в настоящее время назрела необходимость в актуализации методологии исследований на кампилобактериоз, где будут представлены доступные для ветеринарных лабораторий методы лабораторной диагностики кампилобактериоза (вибриоза) КРС и овец, необходимо остановить выбор на использовании только качественных питательных сред для выделения *Campylobacter* spp. для получения объективных результатов при бактериологическом контроле.

Заключение

1. Общепринятый в настоящее время метод культивирования посевов материала КРС с использованием ПЖА не имеет должного применения из-за отсутствия у него ингибирующей способности.

2. Представленные в работе дифференциально-диагностические питательные среды по своим эксплуатационным критериям (производительность, селективность) удовлетворяют требованиям, предъявляемым к средам для выделения *Campylobacter* spp., и могут быть использованы в качестве сред для первичного посева патологического материала.

3. Исследованные в работе селективные питательные среды можно рекомендовать для внесения в список используемых питательных сред при актуализации методологии исследований на кампилобактериоз. Для диагностики *C. fetus* можно рекомендовать питательные среды: новую отечественную питательную среду «Основа железо-эритрит-красного агара для выделения кампилобактерий (Основа ЖЭКА)»

и Columbia agar base, при условии внесения добавок для улучшения роста аэротолерантных кампилобактеров *C. fetus*.

Использование современных селективных дифференциально-диагностических питательных сред позволит повысить эффективность диагностики кампилобактериоза и сократить сроки исследований по сравнению с существующими в ветеринарии методиками.

Информация о финансировании.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора и ФГБУ ЦНМВЛ.

Financial support

The work was carried out within the framework of the sectoral program of Rosпотребнадзор and FGBU CSMVL.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

1. Гришина ВА, Красовская ТМ, Гришина АВ. Кампилобактериоз домашних животных. Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2010;3:62-64.
2. Микробиологический контроль качества пищевой продукции. Коллективная монография. Под ред. Поповой АЮ, Дятлова ИА. М.: Издательство «Династия»; 2020, с. 198-225.
3. Ефимочкина НР. Бактериальные пищевые патогены рода *Campylobacter*. М.: Изд-во РАМН; 2019, 216 с.
4. Ефимочкина НР. Оценка роли бактерий рода *Campylobacter* в возникновении пищевых токсикоинфекций и современные методы обнаружения возбудителя. Вопросы питания. 2015;84(6):5-18.
5. Профилактика и борьба с заразными болезнями, общими для человека и животных. Кампилобактериоз СП 3.1.087-96, ВП 13.4.1307-96.
6. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 10.11.2017 N80 «Об утверждении Правил организации проведения лабораторных исследований (испытаний) при осуществлении ветеринарного контроля (надзора)».
7. Методика бактериологической диагностики кампилобактериоза животных. СПб., 2000.
8. Полосенко ОВ, Шепелин АП, Марчихина ИИ, Шолохова ЛП. Диагностика кампилобактериоза культуральным методом: возможность и перспектива. В сборнике: Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации. Сборник материалов V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. 2018, с. 179-181.
9. Рекомендации по организации и проведению контроля качества питательных сред для ветеринарных лабораторий. М., 2011.
10. ГОСТ ISO 11133-2016. Микробиология пищевых продуктов, кормов для животных и воды. Приготовление, производство, хранение и определение рабочих характеристик питательных сред. М., 2016 г.
11. Методические указания. МУК 4.2.2316-08. Методы контроля бактериологических питательных сред.
12. Методические указания. МУК 4.2.2321-08. Методы определения бактерий рода *Campylobacter* в пищевых продуктах.

References

1. Grishina VA, Krasovskaya TM, Grishina AV. *Campylobacteriosis* pets. Issues of Legal Regulation in Veterinary Medicine 2010;3:62-64. (In Russian).

2. Microbiological quality control of food products. Edited by Popova AYu, Dyatlov IA. Moscow: "Dynasty" Publ.; 2020, pp. 198-225. (In Russian).
3. Efimochkina NR. Bacterial food pathogens of the genus *Campylobacter*. Moscow: RAMN Publ.; 2019, 216 p. (In Russian).
4. Efimochkina NR. Evaluation of the role of *Campylobacter* spp. in the occurrence of foodborne diseases and modern methods to detect the pathogen. *Problems of Nutrition*. 2015;84(6):5-18. (In Russian).
5. Prevention and control of infectious diseases common to humans and animals. *Campylobacteriosis* SP 3.1.087-96, VP 13.4.1307-96. (In Russian).
6. Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission of 10.11.2017 N80 «On approval of the Rules for the organization of laboratory tests in the implementation of veterinary control (supervision)». (In Russian).
7. Methods of bacteriological diagnostics of campylobacteriosis of animals. St. Petersburg, 2000. (In Russian).
8. Polosenko O V, Shepelin AP, Marchikhina II, Sholokhova LP. Diagnosis of campylobacteriosis by culture method: possibility and perspective. In: *Prospects for the introduction of innovative technologies in medicine and pharmacy. Proceedings of the V All-Russian Scientific and Practical Conference with International Participation*. 2018, pp. 179-181. (In Russian).
9. Recommendations on the organization and conduct of quality control of nutrient media for veterinary laboratories. Moscow, 2011. (In Russian).
10. 0. GOST ISO 11133-2016. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and determination of characteristics of nutrient media. Moscow, 2016. (In Russian).
11. Methodological guidelines. MUC 4.2.2316-08. Methods of control of bacteriological nutrient media. (In Russian).
12. Methodological guidelines. MUC 4.2.2321-08. Methods for the determination of bacteria of the genus *Campylobacter* in food products. (In Russian).

Информация об авторах:

Скоморина Юлия Александровна, научный сотрудник ФГБУ «Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория»
Адрес: 111622, Москва, ул. Оранжерейная, 23
Телефон: (495) 700-0137
E-mail: yskomorina@inbox.ru

Ахметова Лилия Шафиковна, заведующая отделом приготовления питательных сред ФГБУ «Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория»
Адрес: 111622, Москва, ул. Оранжерейная, 23
Телефон: (495) 700-0137
E-mail: pitatelnie_sredi@mail.ru

Подольская Татьяна Владимировна, главный специалист отдела приготовления питательных сред ФГБУ «Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория»
Адрес: 111622, Москва, ул. Оранжерейная, 23
Телефон: (495) 700-0137
E-mail: pitatelnie_sredi@mail.ru

Шепелин Анатолий Прокопьевич, доктор биологических наук, заместитель директора ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24 ФБУН ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 36-0020
E-mail: shepelin@obolensk.org

Полосенко Ольга Вадимовна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник сектора микробиологических исследований ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24 ФБУН ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 36-0003
E-mail: polosenko@obolensk.org

Information about authors:

Yulia A. Skomorina, Researcher, Central Scientific and Methodological Veterinary Laboratory
Address: 23 Oranzhereinaya str., Moscow, 111622, Russian Federation
Phone: (495) 700-0137
E-mail: yskomorina@inbox.ru

Lilia Sh. Akhmetova, Head of the Culture Media Preparation Department, Central Scientific and Methodological Veterinary Laboratory
Address: 23 Oranzhereinaya str., Moscow, 111622, Russian Federation
Phone: (495) 700-0137
E-mail: pitatelnie_sredi@mail.ru

Tatiana V. Podolskaya, Chief Specialist of the Culture Media Preparation Department, Central Scientific and Methodological Veterinary Laboratory
Address: 23 Oranzhereinaya str., Moscow, 111622, Russian Federation
Phone: (495) 700-0137
E-mail: pitatelnie_sredi@mail.ru

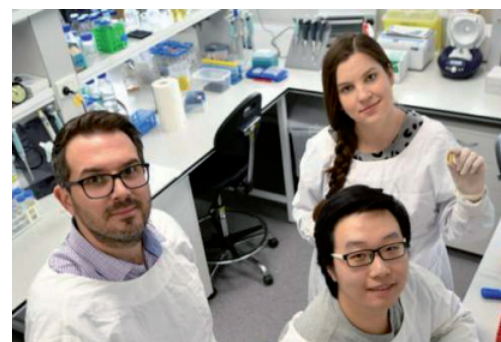
Anatoly P. Shepelin, PhD, DSc (Biological Sciences), Deputy Director, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор
Address: Bld. 24, Territory «Kvartal A», Obolensk, Serpukhov, 142279, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0020
E-mail: shepelin@obolensk.org

Olga V. Polosenko, PhD (Biological Sciences), Leading Researcher of the Microbiological research department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор
Address: Bld. 24, Territory «Kvartal A», Obolensk, Serpukhov, 142279, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0003
E-mail: polosenko@obolensk.org

Новая защита от супербактерий

Ученые Университета Флиндерса установили, что благодаря антимикробным свойствам жирных кислот рыбий жир может оказаться простой и безопасной пищевой добавкой, которую люди могут принимать вместе с антибиотиками, чтобы сделать их борьбу с инфекцией более эффективной.

Zang M, MacDermott-Opeskin H, Adams FG, et al.
The Membrane Composition Defines the Spatial Organization and Function of a Major Acinetobacter baumannii Drug Efflux System.
mBio. 2021 Jun 29;12(3):e0107021. DOI: 10.1128/mBio.01070-21



Влияние состава питательной среды на прирост биомассы и синтез противомикробных метаболитов пробиотических штаммов *Bacillus subtilis*

С.А.Лазарев, В.Г.Арзуманян, Н.А.Михайлова

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова», Москва, Российская Федерация

Перспективными продуцентами противомикробных субстанций являются пробиотические штаммы *Bacillus subtilis* 1719 и *B. subtilis* 3H, проявляющие высокую антагонистическую активность к условно-патогенным микроорганизмам. Известно, что оптимальный состав питательной среды определяет биосинтетическую активность культивируемых штаммов и способствует максимальному накоплению вторичных метаболитов. В данной работе проведена сравнительная оценка влияния основных источников питания (белкового и углеводного) на ростовые и функциональные свойства пробиотических штаммов *B. subtilis* 1719 и *B. subtilis* 3H. В результате проведенных экспериментов составлена рецептура оптимальной питательной среды, обеспечивающая наибольший выход биомассы и максимальную противомикробную активность вторичных метаболитов исследуемых культур.

Ключевые слова: *Bacillus subtilis*, вторичные метаболиты, противомикробная активность

Для цитирования: Лазарев С.А., Арзуманян В.Г., Михайлова Н.А. Влияние состава питательной среды на прирост биомассы и синтез противомикробных метаболитов пробиотических штаммов *Bacillus subtilis*. Бактериология. 2021; 6(2): 38–42. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-2-38-42

Influence of nutrient medium composition on biomass growth and antimicrobial metabolites synthesis of *Bacillus subtilis* probiotic strains

S.A.Lazarev, V.G.Arzumanyan, N.A.Mikhailova

I.I.Mechnikov Research Institute of Vaccines and Serums, Moscow, Russian Federation

Probiotic strains *Bacillus subtilis* 1719 and *B. subtilis* 3H, which exhibit high antagonistic activity against opportunistic microorganisms, are promising producers of antimicrobial substances. It is known that the optimal composition of the nutrient medium determines the biosynthetic activity of cultivated strains and promotes the maximum accumulation of secondary metabolites. A comparative assessment of the influence of the main food sources (protein and carbohydrate) on the growth and functional properties of the probiotic strains *B. subtilis* 1719 and *B. subtilis* 3H is carried out in this work. As a result of the experiments, the formulation of the optimal nutrient medium was compiled, which provides the highest biomass yield and the maximum antimicrobial activity of the secondary metabolites of the studied cultures.

Key words: *Bacillus subtilis*, secondary metabolites, antimicrobial activity

For citation: Lazarev S.A., Arzumanyan V.G., Mikhailova N.A. Influence of nutrient medium composition on biomass growth and antimicrobial metabolites synthesis of *Bacillus subtilis* probiotic strains. Bacteriology. 2021; 6(2): 38–42. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2021-2-38-42

Антибиотикорезистентность возбудителей инфекционных болезней представляет собой актуальную проблему современной медицины. По данным Всемирной организации здравоохранения, она является одной из десяти стоящих перед человечеством глобальных угроз здоровью населения. Одним из основных направлений решения проблемы является изучение и разработка альтернативных подходов к

лечению и профилактике инфекционных заболеваний [1]. В этом аспекте вызывают интерес микроорганизмы рода *Bacillus*.

Род *Bacillus* представляют грамположительные, палочковидные, спорообразующие, аэробные или факультативно-анаэробные бактерии. Большинство бацилл (кроме *B. anthracis* и *B. cereus*) не опасны для человека. Наиболее

Для корреспонденции:

Лазарев Сергей Александрович, аспирант, младший научный сотрудник ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова»

Адрес: 105064, Москва, Малый Казенный переулок, 5А
Телефон: (495) 916-2587
E-mail: lazarevsr1@gmail.com

Статья поступила 26.08.2021 г., принята к печати 30.08.2021 г.

For correspondence:

Sergey A. Lazarev, postgraduate student, Junior Researcher, I.I.Mechnikov Research Institute of Vaccines and Serums

Address: 5A Maly Kazenny lane, Moscow, 105064, Russian Federation
Phone: (495) 916-2587
E-mail: lazarevsr1@gmail.com

The article was received 26.08.2021, accepted for publication 30.08.2021

изученным и широко распространенным в окружающей среде является вид *B. subtilis*.

Многие виды рода *Bacillus* демонстрируют широкий спектр физиологических способностей, которые позволяют им жить в различных экологических нишах. В научной литературе описано большое количество биологически активных метаболитов, синтезируемых в процессе жизнедеятельности этих бактерий. К ним относятся ферменты различных классов, антибиотикоподобные вещества, аминокислоты, полисахариды и прочие [2, 3]. Благодаря этим свойствам бактерии рода *Bacillus* активно применяются в медицине и ветеринарии в качестве пробиотиков, а также в промышленности в качестве штаммов-продуцентов.

Бактериоцинные антибиотики (бацитрацин, грамицидин, колистин, полимиксин), разработанные на основе производных бациллярных штаммов, демонстрируют высокую противомикробную активность и безопасность. Важным их преимуществом является активность в отношении возбудителей инфекций, устойчивых к классическим антибиотикам [4]. Однако спектр препаратов, необходимых для терапии различных инфекционных болезней и осложнений, оставляет желать большего, особенно с учетом необходимости персонализированной терапии.

Известны пробиотические штаммы *B. subtilis* 1719 и *B. subtilis* 3Н, проявляющие высокую антагонистическую активность в отношении условно-патогенных микроорганизмов [5, 6]. Изучение синтеза и состава вторичных метаболитов, получаемых в зависимости от условий культивирования этих культур, может послужить дальнейшему поиску и выделению новых биологически активных веществ, а также их использованию в качестве основ пробиотических препаратов нового поколения (постбиотики, метабиотики), предназначенных для лечения и профилактики различных заболеваний.

Известно, что состав питательной среды определяет биосинтетическую активность культивируемых штаммов, выбор метода очистки целевых продуктов и изучение их терапевтических свойств.

Цель работы: оптимизировать состав питательной среды культивирования штаммов *B. subtilis* 3Н и *B. subtilis* 1719 для максимального накопления биомассы и вторичных метаболитов, обладающих противомикробной активностью.

Материалы и методы

В работе использовали бациллярные штаммы *B. subtilis* 3Н и *B. subtilis* 1719, а также тест-штаммы *Staphylococcus aureus* FDA 209P, *S. aureus* 29213, *Proteus mirabilis* 24a, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albicans* 927 из коллекции ФГБНУ НИИВС им. И.И.Мечникова.

Культивирование проводили на следующих питательных средах:

Среда №9 (г/л): FeSO₄·7H₂O – 0,01 («Реахим», Россия); MgSO₄·7H₂O – 0,1 («Реахим», Россия); MnCl₂ – 0,01 («Лабтех», Россия); CaCl₂ («Лаверна», Россия) – 0,08; пептон – 5,0 (HiMedia, Индия); глюкоза – 10,0 (PanReac Applichem, Испания/Германия); дрожжевой экстракт – 3,0 (HiMedia, Индия); pH 7,3.

Среда №5 (г/л): K₂HPO₄·3H₂O – 0,3 («Лабтех», Россия); NH₄H₂PO₄ – 2,0 («Мосреактив», Россия); Na₃C₆H₅O₇·5,5H₂O –

2,0 («Лаверна», Россия); CuSO₄·5H₂O – 0,005 («Химмед», Россия); ZnSO₄·7H₂O – 0,004 («Химмед», Россия); FeSO₄·7H₂O – 0,0005 («Реахим», Россия); CaCl₂ – 0,165 («Лаверна», Россия); MnSO₄·5H₂O – 0,05 («Реахим», Россия); MgSO₄·7H₂O – 0,3 («Реахим», Россия); пептон – 5,0 (HiMedia, Индия); pH 7,3.

LB-бульон (г/л): триптон – 10,0 (HiMedia, Индия); дрожжевой экстракт – 5,0 (HiMedia, Индия); NaCl – 10,0 (Sigma, США).

Среда Гаузе №2 (г/л): триптон – 2,5 (HiMedia, Индия); пептон – 5 (HiMedia, Индия); NaCl – 5 (Sigma, США); глюкоза – 10 (PanReac Applichem, Испания/Германия); pH 7,2.

Ампулы с лиофилизированными штаммами *B. subtilis* вскрывали и подращивали на питательном бульоне в течение 4–5 ч, далее высевали на агаризованную среду №9 и инкубировали в термостате в течение 18 ч при температуре 37°C. Затем смывали полученную биомассу и готовили посевную дозу для обеих культур с концентрацией 1 × 10⁹ кл/мл. Штаммы *B. subtilis* выращивали методом глубинного периодического культивирования в колбах Эрленмейера в шейкере-инкубаторе BioSan es-20 при температуре 37°C и перемешивании 220 об./мин в течение 24 ч.

Концентрацию микробных клеток в 1 мл определяли, используя отраслевой стандартный образец мутности (ОСО) на 10 Ед.

Культуральные фильтраты, содержащие вторичные метаболиты, получали центрифугированием выращенной биомассы бацилл со скоростью 8000 об./мин в течение 30 мин с последующей микрофильтрацией супернатантов.

Для изучения противомикробной активности к аликватам фильтратов *B. subtilis* добавляли суспензии клеток тест-штаммов с концентраций 1 × 10⁸ кл/мл. В качестве контроля использовали физиологический раствор. Тест-штаммы инкубировали при температуре 32°C в течение 2 ч в условиях перемешивания. Далее клетки отделяли центрифугированием, супернатанты удаляли, а к осадкам добавляли раствор бромкрезолового пурпурного в фосфатном буфере pH 4,6. Смесь суспендировали и инкубировали при температуре 32°C в течение 45 мин в условиях перемешивания. Затем суспензии центрифугировали и по 50 мкл полученных супернатантов добавляли в заранее подготовленные пробирки, содержащие по 2,5 мл фосфатного буфера pH 4,6. Полученные растворы перемешивали и измеряли оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 440 нм в кюветах 1 см. Из трех измерений для каждой пробы вычисляли среднее значение оптической плотности, затем производили расчет по формуле:

$$A = (OP_{\text{контр.}} - OP_{\text{опыт.}}) \times 100 / OP_{\text{контр.}}$$

где A – противомикробная активность, выраженная в процентах; OP_{контр.} – оптическая плотность смеси из контрольной пробирки; OP_{опыт.} – оптическая плотность смеси из опытной пробирки [7].

Статистический анализ проводили с помощью программы Microsoft Excel. Достоверность различий между сравниваемыми величинами определяли по критерию Манна–Уитни.

Результаты и обсуждение

В качестве источников азота были оценены различные варианты гидролизатов: триптон, пептон и панкреатический

гидролизат казеина (ПГК). Для этого на основе картофельно-глюкозного бульона готовили 1%-й раствор каждого компонента и изучали их влияние на ростовую и функциональную активности штаммов *B. subtilis* (табл. 1, 2).

Как видно из табл. 1, различия в приросте биомассы у штаммов *B. subtilis* при культивировании с триптоном или пептоном были незначительны ($p > 0,05$). ПГК оказывал слабое действие на прирост биомассы обоих штаммов. Однако противомикробная активность не соответствовала количеству выросших клеток. Из табл. 2 следует, что при выращивании штамма *B. subtilis* 1719 на среде с триптоном полученные метаболиты проявляли более высокую противомикробную активность в отношении тест-штаммов *S. aureus* FDA 209P, *S. aureus* 29213 и *C. albicans* 927 в сравнении с метаболитами, полученными при культивировании *B. subtilis* 1719 на среде с пептоном. При этом противомикробного действия на тест-штаммы *P. mirabilis* 24a и *E. coli* ATCC 25922 не выявлено. При культивировании *B. subtilis* 1719 на среде с ПГК противомикробная активность отсутствовала по отношению ко всем тест-штаммам. Метаболиты штамма *B. subtilis* 3Н, полученные при выращивании на среде с триптоном, проявляли более высокую противомикробную активность в отношении тест-штаммов *S. aureus* 29213, *P. mirabilis* 24a и *C. albicans* 927 в сравнении с метаболитами, полученными при культивировании *B. subtilis* 3Н на среде с пептоном. Различия активности в отношении тест-штамма *S. aureus* FDA 209P были незначительны ($p > 0,05$). Противомикробное действие на тест-штамм *E. coli* ATCC 25922 отсутствовало. При выращивании штамма *B. subtilis* 3Н с ПГК полученные метаболиты оказывали более низкую противомикробную активность в отношении тест-штаммов *S. aureus* FDA 209P и *S. aureus* 29213 в сравнении с метаболитами, полученными при культивировании *B. subtilis* 3Н на среде с триптоном. Активность в отношении тест-штаммов *P. mirabilis* 24a, *E. coli* ATCC 25922 и *C. albicans* 927 при этом отсутствовала. Исходя из полученных данных, триптон был выбран в качестве перспективного компонента питательной среды.

Таблица 1. Влияние гидролизатов на прирост биомассы в стационарной фазе культивирования штаммов *B. subtilis*

Гидролизаты	Биомасса в стационарной фазе роста $\times 10^9$ кл./мл	
	<i>B. subtilis</i> 1719	<i>B. subtilis</i> 3Н
Триптон	8 \pm 3	9 \pm 3
Пептон	8 \pm 2	9 \pm 3
ПГК	6 \pm 2*	5 \pm 2*

* $p \leq 0,01$ – достоверность различий по сравнению с триптоном.

Далее исследовали влияние различных углеводов на ростовую и функциональную активности штаммов *B. subtilis* (табл. 3, 4).

Из полученных данных следует, что добавление углеводов приводило к увеличению ростовой и функциональной активностей исследуемых штаммов. Глюкоза оказывала наибольшее стимулирующее действие на прирост биомассы штамма *B. subtilis* 1719 в сравнении с другими углеводами. При выращивании штамма *B. subtilis* 3Н лучшие результаты наблюдались на средах, содержащих глюкозу или мальтозу. Различия в приросте биомассы между ними были незначительны ($p > 0,05$). Другие углеводы оказывали меньшее стимулирующее действие. При выращивании штамма *B. subtilis* 1719 с добавлением глюкозы противомикробная активность метаболитов проявлялась по отношению ко всем тест-штаммам и была выше в сравнении с метаболитами, полученными при культивировании с остальными углеводами. У метаболитов *B. subtilis* 3Н противомикробное действие проявлялось по отношению ко всем тест-штаммам при выращивании на средах с добавлением глюкозы или мальтозы. Различия в противомикробной активности между ними оказались незначительными ($p > 0,05$). Установлено также, что увеличение концентрации глюкозы в питательной среде более 1% негативно сказывалось на ростовой и функциональной активности исследуемых штаммов. На основе полученных результатов глюкоза была включена в состав оптимизированной питательной среды.

После оптимизации питательной среды по основным источникам питания (белкового и углеводного) подбор других компонентов и их концентраций осуществляли на основании анализа питательных сред, рекомендованных для культивирования бактерий рода *Bacillus*. Для обеспечения нормального энергетического обмена в клетках, а также биосинтетических процессов в питательную среду добавляли фосфорнокислый калий (K_2HPO_4). В качестве источников витаминов (особенно группы В) служил дрожжевой экстракт. В качестве источников необходимых микроэлементов, используемых для обеспечения роста и развития штаммов *B. subtilis*, были добавлены следующие неорганические вещества: FeSO_4 , MgSO_4 , MnSO_4 , NaCl , CaCl_2 . Исходя из полученных данных, была составлена рецептура оптимальной питательной среды (табл. 5).

Далее на подобранной питательной среде изучали ростовую и функциональную активности штаммов *B. subtilis* в сравнении с питательными средами, которые используются для выращивания споровых пробиотиков (табл. 6, 7).

Таблица 2. Влияние промышленных гидролизатов на противомикробную активность метаболитов *B. subtilis*

Тест-штаммы	Противомикробная активность, %					
	<i>B. subtilis</i> 1719			<i>B. subtilis</i> 3Н		
	триптон	пептон	ПГК	триптон	пептон	ПГК
<i>S. aureus</i> FDA 209P	22,2 \pm 2,3	13,7 \pm 1,9*	0*	19,5 \pm 2,1	17,5 \pm 2,3	5,7 \pm 1,4*
<i>S. aureus</i> 29213	18,7 \pm 1,8	6,6 \pm 1,6*	0*	18,2 \pm 2,2	14,7 \pm 1,9*	5,4 \pm 1,5*
<i>P. mirabilis</i> 24a	0	0	0	9,8 \pm 1,4	5,3 \pm 1,7*	0*
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0	0	0	0	0	0
<i>C. albicans</i> 927	8,5 \pm 1,2	0*	0*	11,1 \pm 1,3	0*	0*

* $p \leq 0,01$ – достоверность различий по сравнению с триптоном.

Таблица 3. Влияние углеводов на прирост биомассы в стационарной фазе культивирования штаммов *B. subtilis*

Углеводы	Биомасса в стационарной фазе роста × 10 ⁹ кл./мл	
	<i>B. subtilis</i> 1719	<i>B. subtilis</i> 3Н
Глюкоза	18 ± 3	16 ± 2
Лактоза	8 ± 2*	6 ± 2*
Мальтоза	9 ± 2*	14 ± 3
Крахмал	12 ± 3*	10 ± 3*

* $p \leq 0,01$ – достоверность различий по сравнению с глюкозой.

Таблица 4. Влияние углеводов на противомикробную активность метаболитов штаммов *B. subtilis*

Тест-штаммы	Противомикробная активность <i>B. subtilis</i> 1719, %			
	глюкоза	лактоза	мальтоза	крахмал
<i>S. aureus</i> FDA 209P	38,2 ± 2,4	22,1 ± 2,1*	23,2 ± 2,2*	21,1 ± 2,3*
<i>S. aureus</i> 29213	34,3 ± 2,7	18,7 ± 1,8*	17,1 ± 2,1*	16,4 ± 2,4*
<i>P. mirabilis</i> 24a	11,9 ± 1,9	0*	0*	6,7 ± 1,8*
<i>E. coli</i> ATCC 25922	13,9 ± 2,8	0*	0*	0*
<i>C. albicans</i> 927	28,3 ± 2,5	17,4 ± 1,7*	16,5 ± 2,4*	16,6 ± 2,8*
Противомикробная активность <i>B. subtilis</i> 3Н, %				
<i>S. aureus</i> FDA 209P	33,7 ± 2,7	19,8 ± 2,2*	28,6 ± 3,1	25,1 ± 1,7*
<i>S. aureus</i> 29213	30,1 ± 2,2	21,1 ± 1,8*	29,8 ± 2,8	24,7 ± 2,2*
<i>P. mirabilis</i> 24a	17,9 ± 2,9	10,4 ± 2,3*	15,2 ± 2,4	9,1 ± 2,1*
<i>E. coli</i> ATCC 25922	11,7 ± 2,8	0*	10,1 ± 2,8	0*
<i>C. albicans</i> 927	32,1 ± 3,1	0*	28,3 ± 2,1	0*

* $p \leq 0,01$ – достоверность различий по сравнению с глюкозой.

Из данных табл. 6, 7 следует, что оптимизированная питательная среда обеспечивала наибольший выход биомассы и синтез вторичных метаболитов, обладающих противомикробной активностью, у исследуемых штаммов *B. subtilis* в сравнении с другими питательными средами, применяемыми в производстве споровых пробиотиков. На рисунке для примера представлено противомикробное действие метаболитов *B. subtilis* 3Н, полученных при культивировании на оптимальной питательной среде, на штамм *C. albicans* 927 в сравнении с контролем.

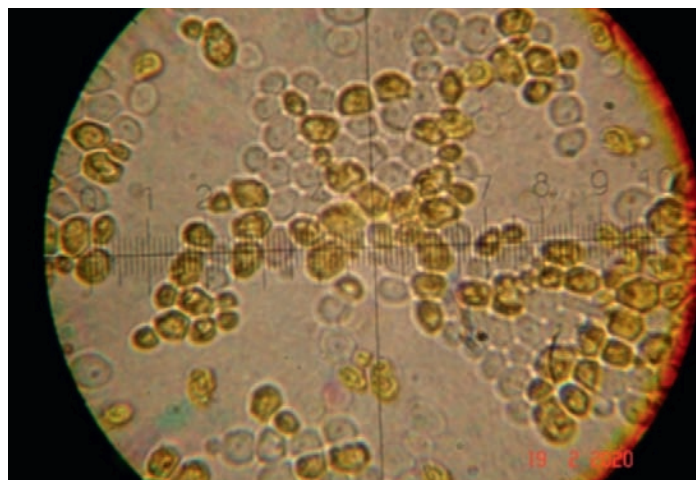


Таблица 5. Состав оптимальной питательной среды

Компонент питательной среды	Масса, г/л
Глюкоза безводная	10
Триптон	10
Дрожжевой экстракт	3
Калий фосфорнокислый 2-замещенный 3-водный	0,5
Железо сернокислое 7-водное	0,01
Магний сернокислый 7-водный	0,1
Марганец сернокислый 5-водный	0,03
Натрий хлористый	1
Кальций хлористый	0,2
рН = 7–7,2	

Таблица 6. Прирост биомассы в стационарной фазе культивирования штаммов *B. subtilis* на разных средах

Среды	Биомасса в стационарной фазе роста × 10 ⁹ кл./мл	
	<i>B. subtilis</i> 1719	<i>B. subtilis</i> 3Н
Оптимальная	26 ± 4	22 ± 3
N9	18 ± 3*	15 ± 3*
N5	8 ± 3*	7 ± 3*
LB	6 ± 2*	7 ± 2*
Гаузе №2	16 ± 4*	14 ± 3*

* $p \leq 0,01$ – достоверность различий по сравнению с оптимальной питательной средой.

Заключение

Таким образом, в результате проведенных экспериментов составлена рецептура оптимальной питательной среды для культивирования пробиотических штаммов *B. subtilis* 1719 и *B. subtilis* 3Н, обеспечивающая наибольший выход биомассы и противомикробную активность вторичных метаболитов.

Информация о финансировании

Бюджетное финансирование.

Financial support

Budget financing.

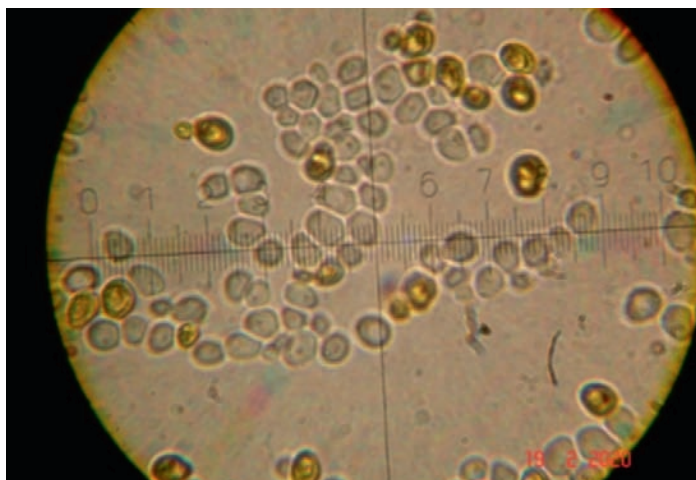


Рисунок. Действие метаболитов культуры *B. subtilis* 3Н, выращенной на оптимальной питательной среде, на клетки *C. albicans* 927: слева – опытный вариант (фильтрат), справа – контроль (физраствор); желтые клетки – мертвые, белые клетки – живые.

Таблица 7. Противомикробная активность метаболитов штаммов *B. subtilis* на разных средах

Тест-штаммы	Противомикробная активность <i>B. subtilis</i> 1719 (%), выращенных на средах:				
	Оптимальная	N9	N5	LB	Гаузе №2
<i>S. aureus</i> FDA 209P	47,5 ± 3,2	33,9 ± 1,9*	23,7 ± 2,2*	14,4 ± 2,3*	28,9 ± 2,6*
<i>S. aureus</i> 29213	48,6 ± 2,8	29,7 ± 2,2*	25,3 ± 1,7*	12,4 ± 1,6*	27,6 ± 2,9*
<i>P. mirabilis</i> 24a	29,9 ± 2,7	10,8 ± 2,3*	0*	0*	7,5 ± 1,6*
<i>E. coli</i> ATCC 25922	26,6 ± 3,1	0*	0*	0*	6,5 ± 2,1
<i>C. albicans</i> 927	38,9 ± 2,2	18,1 ± 1,9*	9,8 ± 1,8*	0*	19,1 ± 2,3*
Тест-штаммы	Противомикробная активность <i>B. subtilis</i> 3Н, %				
	оптимальная	N9	N5	LB	Гаузе №2
<i>S. aureus</i> FDA 209P	53,3 ± 3,1	35,5 ± 1,3*	20,2 ± 2,9*	16,4 ± 2,4*	30,2 ± 3,2*
<i>S. aureus</i> 29213	50,5 ± 2,8	32,4 ± 3,1*	21,2 ± 2,4*	14,7 ± 2,7*	25,9 ± 2,6*
<i>P. mirabilis</i> 24a	36,3 ± 2,6	24,6 ± 2,6*	9,1 ± 1,8*	0*	19,3 ± 2,1*
<i>E. coli</i> ATCC 25922	39,8 ± 3,2	19,9 ± 2,4*	0*	0*	25,6 ± 2,2*
<i>C. albicans</i> 927	54,1 ± 1,9	38,1 ± 2,2*	11,8 ± 2,2*	0*	21,3 ± 2,5*

* $p \leq 0,01$ – достоверность различий по сравнению с оптимальной питательной средой.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

- Venter H, Henningsen ML, Begg SL. Antimicrobial resistance in healthcare, agriculture and the environment: the biochemistry behind the headlines. *Essays Biochem.* 2017 Mar 3;61(1):1-10. DOI: 10.1042/EBC20160053
- Михайлова НА, Гринько ОМ. Бактерии рода *Bacillus* – продуценты биологически активных веществ антимикробного действия. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2010;3:85-89.
- Забокрицкий НА. Биологически активные вещества, синтезируемые пробиотическими микроорганизмами родов *Bacillus* и *Lactobacillus*. Здоровье и образование в XXI веке. 2015;17(3):80-90.
- Тагиева СА, Гахраманова ФХ. Преимущества применения бактериоцидных препаратов по сравнению с химическими антибиотиками для лечения инфекций у человека и животных. (Обзор). *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация.* 2020;4:122-128.
- Михайлова НА, Кузнецова ТН, Кунягина ОВ. Штамм бактерий *Bacillus subtilis*, несущий свойство антибиотикорезистентности, используемый для получения препарата «Бактиспорин». Патент РФ №2067616. 10.10.1996.
- Михайлова НА, Гатауллин АГ. Штамм бактерий *Bacillus subtilis* 1719 – продуцент антагонистически активной биомассы в отношении болезнетворных микроорганизмов, а также протеолитических, амилолитических и липолитических ферментов. Патент РФ № 2298032. 27.04.2007.
- Арзуманян ВГ, Михайлова НА, Артемьева ТА, Бутовченко ЛМ, Вартанова НО, Ерофеева ТВ, Костин МП, Киселевский МВ, Полищук ВБ. Способ определения противомикробной активности цельной сыворотки и фракции ее антимикробных пептидов. Патент РФ № 2686337. 25.04.2019.

References

- Venter H, Henningsen ML, Begg SL. Antimicrobial resistance in healthcare, agriculture and the environment: the biochemistry behind the headlines. *Essays Biochem.* 2017 Mar 3;61(1):1-10. DOI: 10.1042/EBC20160053
- Mikhailova NA, Grin'ko OM. Bakterii roda *Bacillus* – produtsenty biologicheskii aktivnykh veshchestv antimikrobnogo deistviya. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology.* 2010;3:85-89. (In Russian).

- Zabokritskiy NA. The biologically active substances produced probiotic microorganisms of the genera *Bacillus* and *Lactobacillus*. *Health and Education millennium.* 2015;17(3):80-90. (In Russian).
- Taghiyeva SA, Kahramanova FK. Advantages of the use of bacteriocines compared to chemical antibiotics for the treatment of infections in human and animals (review). *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy.* 2020;4:122-128. (In Russian).
- Mikhailova NA, Kuznetsova TN, Kuniyagina OV. Strain of bacteria *Bacillus subtilis*, bearing the property of antibiotic resistance, used to obtain the drug "Bactisporin". RF Patent No. 2067616. 10.10.1996. (In Russian).
- Mikhailova NA, Gataullin AG. Bacterial strain *Bacillus subtilis* 1719 is a producer of antagonistically active biomass against pathogens, as well as proteolytic, amyolytic and lipolytic enzymes. RF Patent No. 2298032. 27.04.2007. (In Russian).
- Arzumanyan VG, Mikhailova NA, Artemyeva TA, Butovchenko LM, Vartanova NO, Yerofeeva TV, Kostinov MP, Kiselevsky MV, Polishchuk VB. A method for determining the antimicrobial activity of whole serum and the fraction of its antimicrobial peptides. RF Patent No. 2686337. 25.04.2019. (In Russian).

Информация об авторах:

Арзуманян Вера Георгиевна, доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией физиологии грибов и бактерий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова»
Адрес: 105064, Москва, Малый Казенный переулок, 5А
Телефон: (495) 917-0903
E-mail: veraar@mail.ru

Михайлова Наталья Александровна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией протективных антигенов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова»
Адрес: 105064, Москва, Малый Казенный переулок, 5А
Телефон: (495) 916-2587
E-mail: n_mikhailova@inbox.ru

Information about authors:

Vera G. Arzumanyan, PhD, DSc (Biological Sciences), Professor, Head of the Laboratory of Physiology of Fungi and Bacteria, I.I.Mechnikov Research Institute of Vaccines and Serums
Address: 5A Maly Kazenny lane, Moscow, 105064, Russian Federation
Phone: (495) 917-0903
E-mail: veraar@mail.ru

Natalya A. Mikhailova, MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Laboratory of Protective Antigens, I.I.Mechnikov Research Institute of Vaccines and Serums
Address: 5A Maly Kazenny lane, Moscow, 105064, Russian Federation
Phone: (495) 916-2587
E-mail: n_mikhailova@inbox.ru

Результаты дозорного эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией среди потребителей наркотиков инъекционным путем

Г.Х.Ражабов¹, Д.Д.Умаров²

¹Ташкентский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток, Ташкент, Республика Узбекистан;

²Республиканский центр по борьбе со СПИД, Ташкент, Республика Узбекистан

Статья посвящена результатам специального исследования: дозорного эпидемиологического надзора, проведенного в целях изучения распространенности ВИЧ-инфекции, вирусного гепатита С, сифилиса, факторов риска их передачи среди потребителей инъекционных наркотиков (ПИН) для разработки и внедрения эффективных профилактических программ, а также их оценки.

При анализе полученных данных выявлено, что ПИН в Республике Узбекистан – это в основном мужчины (87,4%), из них 64% в возрасте от 20 до 40 лет. Значительное количество ПИН имело половые контакты повышенного риска с непостоянными и коммерческими половыми партнерами (низкий уровень использования презервативов). Выявлен низкий показатель обследований на ВИЧ. За последний месяц 2,3% ПИН использовали чужой шприц, 12,8% – общую посуду, 3,9% перекачивали наркотики из другого шприца, 4,0% пускали шприц по кругу, 6,8% использовали заправленный другими шприц. Распространенность ВИЧ-инфекции среди ПИН составила 5,1%, вирусного гепатита С – 12%, сифилиса – 3,1%.

Ключевые слова: ВИЧ, вирусный гепатит С, потребители инъекционных наркотиков, дозорный эпидемиологический надзор

Для цитирования: Ражабов Г.Х., Умаров Д.Д. Результаты дозорного эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией среди потребителей наркотиков инъекционным путем. Бактериология. 2021; 6(2): 43–46. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-2-43-46

Results of HIV infection sentinel epidemiological surveillance among injecting drug users

G.Kh.Rajabov¹, D.D.Umarov²

¹Tashkent Research Institute of Vaccines and Serums, Tashkent, Republic of Uzbekistan;

²Republican Center for Fight against AIDS, Tashkent, Republic of Uzbekistan

The article is devoted to the results of a special research: sentinel surveillance conducted to study spreading of HIV infection, HCV, syphilis, and risk factors for their transmission among Injecting Drug Users (IDUs) aimed at the development and implementation of effective prevention programs and their evaluation.

Based on the findings analyses, it has been revealed that IDUs in the Republic of Uzbekistan are mainly men (87.4%), of which 64% are between the ages of 20 and 40. A significant number of IDUs had high-risk sexual intercourse with non-regular and commercial sex partners (a lower rate of condom use). Lower rates of HIV testing have been revealed. Last month 2.3% of IDUs used someone else's syringe, 12.8% shared equipment, 3.9% pumped drugs from another syringe, 4.0% passed a syringe in a circle, 6.8% used a syringe filled by the others. The spreading of HIV infection among IDUs was 5.1%, HCV was 12%, and syphilis 3.1%.

Key words: HIV, HCV, injecting drug users (IDUs), sentinel surveillance

For citation: Rajabov G.Kh., Umarov D.D. Results of HIV infection sentinel epidemiological surveillance among injecting drug users. Bacteriology. 2021; 6(2): 43–46. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2021-2-43-46

Для корреспонденции:

Ражабов Гулом Хурсанович, кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией «Общая эпидемиология» Ташкентского научно-исследовательского института вакцин и сывороток

Адрес: 100084, Республика Узбекистан, Ташкент, Юнусабадский район, ул. Чингиза Айтматова, 37
Телефон: (+998) 71 234-7767
E-mail: gulomr@mail.ru

Статья поступила 02.08.2021 г., принята к печати 30.08.2021 г.

For correspondence:

Gulom Kh. Rajabov, MD, PhD, Head of the General Epidemiology Laboratory at the Tashkent Research Institute of Vaccines and Serums

Address: 37, Chingiz Aytmatov str., Yunusabad District, Tashkent, 100084, Republic of Uzbekistan
Telephone: (+998) 71 234-7767
E-mail: gulomr@mail.ru

The article was received 02.08.2021, accepted for publication 30.08.2021

ВИЧ-инфекция занимает особое место среди социально значимых заболеваний во всем мире. Одной из глобальных стратегий Всемирной организации здравоохранения на период 2016–2021 гг. является борьба с ВИЧ-инфекцией, а перспективный план – к 2030 г. «положить конец эпидемии СПИДа как одной из угроз для общественного здравоохранения». Огромный социально-демографический урон, наносимый эпидемией ВИЧ, диктует необходимость рассматривать вопросы профилактики на уровне государства и регионов, особое внимание уделив молодежи, т.к. именно она – трудовой и репродуктивный резерв страны [1, 2].

Согласно данным Республиканского Центра по борьбе со СПИДом, в Узбекистане эпидемия ВИЧ-инфекции в настоящее время находится в концентрированной стадии и распространяется преимущественно среди уязвимых групп населения, которые подвержены наибольшему риску инфицирования ВИЧ – это потребители инъекционных наркотиков (ПИН), лица, представляющие интимные услуги за вознаграждение, мужчины, имеющие секс с мужчинами. Последние годы удельный вес ПИН среди ВИЧ-инфицированных составляет 10%, то есть инъекционное потребление наркотиков является одним из распространенных путей передачи ВИЧ в Узбекистане [3, 4].

Распространение ВИЧ-инфекции среди наркопотребителей обусловлено опасными инъекционными практиками, прежде всего совместным использованием шприцев [4].

В связи с тем, что контингент ПИН относится к закрытым и труднодоступным слоям общества, создаются определенные сложности в изучении и оценке причин и уровня распространенности ВИЧ-инфекции [5].

В целях определения тенденций развития эпидемии ВИЧ-инфекции в группах населения с высоким риском заражения ВИЧ-инфекцией и других целевых группах в стране был внедрен метод дозорного эпидемиологического надзора (ДЭН) за ВИЧ-инфекцией. Он позволил определить распространенность ВИЧ-инфекции среди обследованных групп, оценить эффективность профилактических программ, определить стадию эпидемии и прогнозировать ситуацию на дозорных участках.

Обобщение результатов ДЭН о распространенности ВИЧ-инфекции и эпидемиологических аналогов ВИЧ, имеющих общие механизмы передачи возбудителей: вирусного гепатита С (ВГС) и сифилиса в совокупности с анализом динамики рискованного поведения, данными официальной статистики и мониторингом проектов по профилактике позволит оценить эпидемиологическую ситуацию по ВИЧ-инфекции и принять необходимые решения для предотвращения распространения ВИЧ.

Цель исследования: изучение распространенности ВИЧ-инфекции, ВГС, сифилиса, факторов риска их передачи среди ПИН для разработки и внедрения эффективных профилактических программ, а также их оценки.

Задачи исследования:

- оценка распространенности ВИЧ-инфекции, ВГС и сифилиса среди ПИН;
- оценка распространенности моделей поведения и факторов риска, определяющих вероятность заражения ВИЧ, ВГС, сифилисом;

- определение осведомленности ПИН о путях передачи ВИЧ и мерах профилактики заражения;
- доступность средств профилактики ВИЧ;
- охват профилактическими мероприятиями;
- обращаемость ПИН за медицинской помощью при наличии симптомов инфекций, передаваемых половым путем (ИППП);
- охват ПИН тестированием на ВИЧ.

Материалы и методы

Критерии отбора: ПИН, указавшие на внутривенное потребление наркотиков хотя бы один раз в течение последних 12 мес., состоящие и не состоящие на учете в наркодиспансере. Повторное исследование биоматериала (крови) и анкетирование одного и того же лица в течение проведения исследования не допускались.

Размер выборки определялся отдельно на каждой территории в зависимости от распространенности ВИЧ-инфекции среди ПИН, размера допустимой ошибки, численности ПИН по данным оценки.

Дизайн выборки: выборка, построенная самими респондентами (Respondent driven sample). Начальные контакты из числа ПИН, получавших услуги в пунктах доверия, которым после анкетирования и сдачи крови выдавались 3 карточки для привлечения ПИН.

Соблюдая все принципы выборки, по республике было отобрано и включено в исследование 5600 респондентов. Участие в поведенческом исследовании было анонимным и добровольным, на основе информированного согласия.

Лабораторные методы исследования: в качестве биологического материала для тестирования была использована сухая капля капиллярной крови. Лабораторные исследования биоматериала проводили методом иммуноферментного анализа на три инфекции – ВИЧ, ВГС, сифилис.

Ввод и обработка введенных данных производилась с помощью программы Epi-Info.

Результаты и обсуждение

Большинство ПИН – это мужчины (87,4%). Доля женщин-ПИН, участвовавших в исследовании, составила 12,6%. Среди ПИН преобладают представители среднего возраста: в возрасте до 20 лет – 0,4%, в 20–29 лет – 17,5%, в 30–39 лет – 46,5%, в возрасте 40 лет и старше – 35,5%.

Основная часть респондентов (80,1%) имела среднее или среднее специальное образование. 36,5% ПИН не имели определенного занятия, работают 61,5%, учатся – 0,9%.

Семейное положение ПИН, участвующих в исследовании: в браке состояли 42,9%, 30,2% разведены, 19,4% холостые, 4,0% вдовцы.

28,3% ПИН, участвовавших в исследовании, состояли на учете в наркологическом диспансере.

5,9% ПИН состояли на учете в противотуберкулезном диспансере. То есть ПИН являются группой повышенного риска по отношению к туберкулезу.

Данные ДЭН показывают, что часть ПИН сдает кровь в качестве доноров. Так, 1,5% ПИН сказали, что в течение последнего года сдавали кровь как доноры.

Почти треть ПИН (27,0%) имела общий стаж употребления наркотиков от 10 лет и более, от года до трех лет – 9,6%, до одного года – 1,0%, 3–5 лет – 24,4%, 5–10 лет – 38,0%.

В 2017 г. каждый ПИН в среднем знал 5,9 ПИН, медиана – 4,0.

Из числа ПИН, принявших участие в ДЭН в 2017 г., 69,2% употребляли наркотики инъекционным путем в течение последнего месяца.

Одним из основных показателей безопасности инъекционного поведения ПИН является использование стерильных игл и шприцев при введении наркотиков. В 2017 г. 89,2% ПИН использовали стерильные иглы и шприцы при последнем употреблении наркотиков инъекционным путем. В 2017 г. за последний месяц 2,3% ПИН использовали чужой шприц, 12,8% – общую посуду, 3,9% перекачивали наркотики из другого шприца, 4,0% пускали шприц по кругу, 6,8% использовали заправленный другими шприц.

73,3% ПИН употребляли наркотики инъекционным путем со знакомыми людьми, 6,6% ПИН употребляли наркотики вместе с половыми партнерами.

Характеристика последнего инъекционного употребления наркотика позволяет нам оценить долю инъекций, сопряженных с риском ВИЧ-инфицирования, среди всех инъекций наркотиков: 8,1% инъекций сопровождается забором наркотика из общей емкости, в 1,7% используется общая вода для промывания шприца и иглы, в 3,8% инъекций ПИН пользовались наркотиком, заправленным в шприц другим, 1,8% инъекций производится чужим шприцем. Использование общего шприца является одной из самых опасных инъекционных практик, так как это один из основных способов передачи парентеральных инфекций. Наличие опыта использования чужого шприца повышает вероятность ВИЧ-инфицирования. Каждая пятидесятая инъекция наркотика производится общим шприцем. Следовательно, риск передачи через чужой шприц держится на уровне 2–3%, и существует тенденция к улучшению данного показателя.

41,5% ПИН имели половые контакты с непостоянными половыми партнерами, каждый пятый (20,8%) ПИН в течение последних 6 мес. имел половые контакты с коммерческими половыми партнерами. Полученные данные скорее опровергают представление, что употребление инъекционных наркотиков снижает интенсивность половой жизни: среднее количество половых партнеров ПИН составило 2,09.

Комплексный показатель по информированности, когда получены правильные ответы на все вопросы о путях заражения и мерах профилактики ВИЧ, в среднем по Узбекистану составил 67,8%.

78,4% ПИН считают, что ВИЧ-инфицированный человек может выглядеть здоровым на вид. 98,2% ПИН считают, что можно не заразиться ВИЧ-инфекцией, если использовать презервативы, и 91,9% ПИН – если иметь половые контакты с одним неинфицированным партнером.

Профилактика, своевременное выявление и лечение ИППП являются ключевыми мерами профилактики заражения ВИЧ половым путем, поскольку при наличии ИППП вероятность заражения ВИЧ во время полового контакта увеличивается многократно.

В 2017 г. 66% женщин-ПИН имели необычные выделения из половых органов, 10,7% – боль внизу живота, 81,3% – язвы в области половых органов; 20,0% ПИН-мужчин имели выделения из полового члена, 74,4% – боль и отечность мошонки; 39% – язвы в области половых органов.

Из протестированных на ВИЧ респондентов обследовались добровольно 80,5%, по направлению врача – 17,6%. Принудительно обследовались 1,9%.

Общепризнано, что одной из самых действенных профилактических мер является добровольное тестирование на ВИЧ, сопровождающееся психосоциальным консультированием.

Из 45,4% ПИН, обследовавшихся на ВИЧ, знают результаты своего теста 96,4%, дотестовое консультирование проводили с 92,4% ПИН, послетестовое консультирование – с 92,4% ПИН.

Распространенность ВИЧ-инфекции среди ПИН – 5,1%, ВГС – 12%, сифилиса – 3,1%.

Выводы

Потребители инъекционных наркотиков в Республике Узбекистан – это в основном мужчины (87,4%), из них 64% в возрасте от 20 до 40 лет, состоят в браке только 42,9%.

Значительное количество ПИН имело половые контакты повышенного риска – с непостоянными и коммерческими половыми партнерами.

Существует большой потенциал передачи ВИЧ половым путем от группы ПИН к другим людям. Учитывая низкий уровень использования презервативов, опасности подвержены все половые партнеры ПИН, в том числе их супруги.

Низкий показатель обследованности на ВИЧ в течение последнего года.

Распространенность ВИЧ-инфекции среди ПИН в 2017 г. – 5,1%, ВГС – 12%, сифилиса – 3,1%.

Рекомендации

Полученные данные о уровне безопасного поведения ПИН необходимо предоставить заинтересованным организациям, работающим по программе СВ и обеспечить совместную работу ННО с государственными учреждениями направленную на изменение инъекционного и сексуального поведения наркозависимых на менее рискованное;

- требуется разработка и внедрение более активных методов работы, в том числе и в рамках программ снижения вреда;

- приблизить услуги к ПИН – открытие пунктов доверия именно в тех местах, где они будут востребованы наркома-нами, усилить аутрич-работу;

- охватить добровольным тестированием на ВИЧ-инфекцию с до- и послетестовым консультированием как можно большее число ПИН;

- каждый контакт с целевой группой должен быть максимально использован для снижения риска инъекционного и полового поведения, для диагностики и лечения ИППП, предоставления добровольного тестирования с до- и послетестовым консультированием;

- для профилактики передачи ВИЧ половым путем следует обеспечить использование презервативов ПИН с их постоянными половыми партнерами.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

1. Азовцева ОВ. Профилактика ВИЧ-инфекции в молодежной среде. Вестник Новгородского государственного университета. 2016;1(92):61-65.
2. Архипова АВ, Юдина СМ, Иванова ИА, Сальникова ИЮ, Русанова ТС, Тарабрина ОВ, Архипова ЕА. О проблеме информированности о ВИЧ-инфекции в студенческом обществе. Коллекция гуманитарных исследований. 2017;1(4).
3. Атабеков НС. Эпидемиологическая ситуация по ВИЧ в Республике Узбекистан и проводимые мероприятия по противодействию распространения ВИЧ/СПИДа. Материалы научно-практической конференции с участием международных специалистов «Современные подходы к диагностике, профилактике и лечению ВИЧ-инфекции». 13 апреля 2018 г., Узбекистан, г. Андижан.
4. Национальный доклад о ходе выполнения Декларации о приверженности делу борьбы с ВИЧ/СПИД специальной сессии Генеральной Ассамблеи ООН. Республика Узбекистан. Отчетный период: январь–декабрь 2020 г.
5. Сайдалиев СС, Атабеков НС. «О проводимых мероприятиях по противодействию распространения ВИЧ-инфекции в Республике Узбекистан». Инфекция, иммунитет и фармакология. 2015;6:6-10.

References

1. Azovtseva OV. Prevention of HIV infection among the youth. Vestnik NovSU. 2016;1(92):61-65. (In Russian).
2. Arkhipova AV, Yudina SM, Ivanova IA, Sal'nikova IYu, Rusanova TS, Tarabrina OV, Arkhipova EA. About the problem of awareness about HIV-infection in the students' society. The Collection of Humanitarian Researches. 2017;1(4). (In Russian).
3. Atabekov NS. Epidemiological situation of HIV in the Republic of Uzbekistan and measures to counter the spread of HIV/AIDS. Materials of the Scientific and Practical Conference with the Participation of International Experts "Modern approaches to the diagnosis, prevention and treatment of HIV infection". 13 April 2018. Republic of Uzbekistan. (In Russian).
4. National Report on the implementation of the Declaration of Commitment on HIV/AIDS of the special session of the UN General Assembly. The Republic of Uzbekistan. Reporting period: January–December 2020 (In Russian).
5. Saydaliev SS, Atabekov NS. On Measures to Counter HIV Infection Spread in the Republic of Uzbekistan. Infection, Immunity and Pharmacology. 2015;6:6-10. (In Russian).

Информация об авторе:

Умаров Джамшид Джапаралиевич, заведующий эпидемиологическим отделом Республиканского центра по борьбе со СПИДом
 Адрес: 100135, Республика Узбекистан, Ташкент, Чиланзарский район, ул. Фархад, 12
 Телефон: (+998) 71 276-2672
 E-mail: aids.uz@minzdrav.uz

Information about author:

Djamshid Dj. Umarov, Head of the Epidemiology Department, Republican Center for Fight against AIDS
 Address: 12, Farkhad str., Chilanzar District, Tashkent 100135, Republic of Uzbekistan
 Telephone: (+998) 71 276-2672
 E-mail: aids.uz@minzdrav.uz

НОВОСТИ НАУКИ

Математическая модель, разработанная для предотвращения ботулизма

В течение многих лет производители продуктов питания, готовых к употреблению, должны были следовать ряду рекомендаций, чтобы остановить рост бактерий *Clostridium botulinum* и выработку сильного нейротоксина. Токсин может вызвать серьезное заболевание, называемое ботулизмом. В отношении охлажденных продуктов в руководстве по борьбе с *C. botulinum* указано, что вода, содержащаяся в продуктах, должна иметь содержание соли не менее 3,5%. К сожалению, это препятствует усилиям по разработке продуктов с пониженным содержанием соли, даже если такие продукты принесут пользу общественному здравоохранению, поскольку большинство потребителей едят больше соли, чем рекомендуется. Если производители продуктов питания хотят выпускать продукты, содержащие, например, меньше соли, им необходимо провести лабораторные эксперименты, чтобы подтвердить, что такое изменение рецепта не поставит под угрозу безопасность пищевых продуктов. Это трудоемкий и дорогостоящий процесс.

Исследователи из Национального института пищевых продуктов разработали математическую модель, которая заменяет дорогостоящие лабораторные эксперименты. Новая модель в состоянии предсказать, может ли конкретный рецепт охлажденных продуктов предотвратить рост *C. botulinum* и выработку токсина, и показать, как температура хранения, pH, использование соли и пяти различных консервантов (таких как уксусная и молочная кислоты) влияют на потенциальный рост бактерий и выработку токсина. Изначально модель была разработана для использования в рыбных продуктах. Однако, проведя валидационные исследования с использованием более 500 различных продуктов, исследователи установили, что ее можно использовать для оценки безопасности рецептов как для рыбы, так и для птицы.

$$\mu_{max} = \mu_{ref-T} \cdot \left(\frac{T - T_{min}}{T_{ref} - T_{min}} \right)^2 \cdot \frac{(pH - pH_{min})(pH_{max} - pH)}{(pH_{opt} - pH_{min})(pH_{max} - pH_{opt})} \cdot \left[(1) \text{ or } \left(1 - \frac{a_w - a_{w, opt}}{a_w - a_{w, min}} \right) \right] \cdot \left(1 - \frac{AACV}{MICV_{AAC}} \right) \cdot \left(1 - \frac{BACV}{MICV_{BAC}} \right) \cdot \left(1 - \frac{LACV}{MICV_{LAC}} \right) \cdot \left(1 - \frac{SACV}{MICV_{SAC}} \right) \cdot \left[(1) \text{ or } \left(1 - \frac{CACV - CACV_{opt}}{MICV_{CAC} - CACV_{opt}} \right) \right] \cdot \xi$$

Koukou I, Mejilholm O, Dalgaard P.

Cardinal parameter growth and growth boundary model for non-proteolytic *Clostridium botulinum* – Effect of eight environmental factors.

International Journal of Food Microbiology. 2021;346:109162.

Биопленки микроорганизмов в урологии: клиническая значимость и контроль связанных с ними инфекций

З.М.Ермоленко, П.В.Слукин, Н.К.Фурсова

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

Обзорная статья рассматривает значение биопленок в урологической практике при лечении инфекций мочевыделительной системы, а также при образовании биопленок на урологических имплантах (катетерах, стентах, сфинктерах, пенильных протезах и др.). Представлены методы борьбы с биопленками бактерий в медицинской практике, основанные на использовании бактериофагов, наночастиц, ферментов, аминокислот, антибактериальных покрытий имплантов.

Ключевые слова: биопленки бактерий в урологии, урологические заболевания, урологические импланты, антибиотикоустойчивость, методы борьбы с биопленками

Для цитирования: Ермоленко З.М., Слукин П.В., Фурсова Н.К. Биопленки микроорганизмов в урологии: клиническая значимость и контроль связанных с ними инфекций. Бактериология. 2021; 6(2): 47–61. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-2-47-61

Microbial biofilms in urology: clinical significance and control of associated infections

Z.M.Ermolenko, P.V.Slugin, N.K.Fursova

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

A review article is focused on the importance of biofilms in urological practice at the treatment of urinary tract infections, as well as on the formation of biofilms on urological implants (catheters, stents, sphincters, penile prostheses, etc.). Various methods of combating bacterial biofilms in medical practice are presented based on bacteriophages, nanoparticles, enzymes, amino acids, and antibacterial coating of the urological implants.

Key words: bacterial biofilms in urology, urological diseases, urological implants, antibiotic resistance, methods of combating biofilms

For citation: Ermolenko Z.M., Slugin P.V., Fursova N.K. Microbial biofilms in urology: clinical significance and control of associated infections. Bacteriology. 2021; 6(2): 47–61. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2021-2-47-61

Способность формировать биопленки является важной частью жизненного цикла большинства микроорганизмов и успешной стратегией защиты бактерий от неблагоприятных факторов окружающей среды. Более 99% бактериальных популяций существуют в природных экосистемах не в виде свободно живущих планктонных клеток, а в виде специфически организованных, прикрепленных к субстратам биопленок, образование которых представляет сложный, строго регулируемый биологический процесс [1]. Изучение биопленок в настоящее время вызывает огромный интерес исследователей, главным образом в связи с тем,

что этот способ существования бактерий создает большие проблемы в медицинской практике. Способность бактерий формировать биопленки рассматривается в настоящее время как фактор их патогенности. Установлено, что многие хронические инфекции, возникновение которых связано с использованием медицинского имплантированного оборудования (стентов, катетеров, протезов и др.), обусловлены способностью бактерий расти в виде биопленок на поверхностях этих устройств, а также на различных органах и тканях в организме человека. Бактерии, живущие внутри биопленок, проявляют значительно более высокую устойчи-

Для корреспонденции

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

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24 ФБУН ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 36-0079
E-mail: n-fursova@yandex.ru

Статья поступила 17.07.2021 г., принята к печати 30.08.2021 г.

For correspondence:

Nadezhda K. Fursova, PhD (Biological Sciences), Leading Researcher, Laboratory of Antimicrobials, Department of Molecular Microbiology, State Scientific Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор

Address: SRCAMB 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0079
E-mail: n-fursova@yandex.ru

The article was received 17.07.2021, accepted for publication 30.08.2021

вость (до 1000 раз) к антибиотикам и другим лекарственным препаратам, что крайне затрудняет борьбу с инфекциями, вызванными различными патогенными бактериями [2, 3].

Образование биопленок патогенными бактериями способствует инфекционным поражениям большинства органов и затрагивает практически все имплантаты. Среди инфекционных заболеваний около 65–80% вызываются бактериями, формирующими биопленки. Изучение закономерностей возникновения и развития микробных сообществ (биопленок) является ключевым моментом дальнейшего развития медицинской микробиологии [4, 5].

Урология – одна из основных областей, в которых микробные биопленки являются серьезной проблемой. Бактериальные биопленки играют важную роль в инфекциях мочевыводящих путей (ИМВП), связаны с трудно поддающимися лечению пиелонефритами, циститами, простатитами и др. Эти инфекции во всем мире относятся к числу широко распространенных причин заболеваемости населения. Около 40% женщин в течение жизни переносят цистит, заболеваемость простатитом составляет 1–2 человека на 10 000 мужчин. Катетеры в мочевыводящих путях устанавливаются у 10–20% госпитальных пациентов, только в США ежегодно устанавливаются 100 млн стентов [6]. ИМВП связаны с важными социальными и финансовыми обстоятельствами. Только в США они связаны примерно с 10 млн посещений терапевта, 1,5 млн обращений в отделения неотложной помощи и 300 тыс. госпитализаций. Последующие затраты на лечение ИМВП (включая убытки из-за отпуска по болезни, госпитализации и фармакотерапии) оцениваются в 6 млрд долларов США [7]. Распространенность ИМВП в России составляет около 1 тыс. случаев на 10 тыс. населения в год, а острых циститов в год регистрируется 36 млн случаев [8]. В связи с этим поиск и изучение веществ, которые могут подавлять образование биопленок и убивать бактерии внутри биопленок, является чрезвычайно важной и актуальной задачей антимикробной терапии.

Особенности строения биопленок бактерий

Биопленка – микробное сообщество, состоящее из клеток, которые прикреплены к поверхности или друг к другу, заключены в матрикс синтезированных ими внеклеточных полимерных веществ; их фенотип изменен по сравнению с одиночными, планктонными клетками; у них изменены параметры роста и экспрессии специфических генов. Зрелые, уже сформированные биопленки могут содержать также покоящиеся или некультивируемые формы бактерий. Биопленки имеют сложную архитектуру – они заключены в экзополимерный матрикс, содержат наполненные жидкостью каналы, через которые происходит ток питательных веществ и кислорода, а также выведение продуктов метаболизма бактерий. Основными компонентами матрикса являются экзополисахариды, белки и нуклеиновые кислоты, матрикс содержит также и другие вещества; состав матрикса различен у бактерий разных таксономических групп [9]. Характерно, что только 5–35% структуры биопленки составляют бактерии [10].

Каналы в матриксе создают своеобразную проводящую систему, по которой перемещаются вещества по градиентам концентрации. По ним также могут мигрировать бактерии. Важнейшей функцией матрикса, помимо каркасной, обеспе-

чивающей стабильность биопленки, является защитная. Показано, что матрикс защищает бактерии в биопленке от антибактериальных препаратов, а также от неблагоприятных воздействий внешней среды (рН среды, осмотический шок, высыхание, ультрафиолетовое облучение, фагоцитоз, факторы иммунной защиты макроорганизма и т.п.). Экзопполисахариды сорбируют металлы и минералы, растворенные органические вещества, концентрируют ферменты и ростовые факторы. Сложная архитектура биопленок обеспечивает возможность метаболической кооперации клеток внутри хорошо пространственно организованных систем, создает условия, благоприятствующие установлению симбиотических взаимоотношений между бактериями разных видов, передаче сигналов, влияющих на экспрессию генов в популяции бактерий. Наличие quorum-sensing (QS) является способностью общаться сигнальными молекулами между бактериями, что позволяет их колониям в биопленке регулировать коллективное поведение и функционировать как единый организм с самостоятельными системами регуляции движения, роста, защиты, размножения, токсичности и вирулентности. В связи с этим биопленки бактерий часто рассматриваются как функциональный аналог многоклеточного организма [11–14].

Механизмы повышенной устойчивости биопленок к действию антибактериальных препаратов

Вопрос о механизмах повышенной устойчивости к антибактериальным препаратам бактерий в составе биопленок по сравнению с планктонными клетками активно изучается, и решение этого вопроса имеет чрезвычайную важность для антибактериальной терапии. К ряду факторов, влияющих на резистентность биопленок, относят ограниченное проникновение антимикробных веществ в биопленку, различия в метаболической активности и скорости роста бактерий в составе биопленок и планктонных форм, присутствие в популяциях клеток, способных выживать в стрессовых условиях. Ответом на стрессовые воздействия является универсальный механизм формирования устойчивости к внешним воздействиям у бактерий, которые в биопленке находят свою экологическую нишу.

Биополимерный матрикс, окружающий клетки в биопленках, препятствует диффузии питательных веществ, а также способствует накоплению метаболитов за счет большой плотности клеток внутри биопленок. При этом создается дефицит питательных веществ, сходный с таковым в культурах в стационарной фазе. Считается, что по физиологическому состоянию и метаболической активности клетки, живущие в составе биопленок, более сходны с клетками стационарной фазы роста, чем с активно делящимися клетками. В том числе клетки бактерий в биопленках более устойчивы к действию антибактериальных веществ, как и бактерии в культурах, достигших стационарной фазы [15, 16].

Еще одним фактором, связанным с устойчивостью биопленок к антимикробным препаратам, может быть появление и размножение в них клеток-персистеров, изначально малочисленной (0,001–1%) субпопуляции микроорганизмов, обладающей свойством выживать в присутствии летальных доз антибиотиков. Показано, что персистеры образуются в микробных популяциях, подвергающихся стрессовыми воздействиями, а при возвращении в нормальные условия вос-

становливают структуру родительской популяции, что в клиническом плане может быть связано с рецидивирующими инфекциями из-за неадекватной или прерванной антибиотикотерапии [17–19]. Исследования указывают на необходимость более глубокого изучения механизмов инфекций, связанных с клетками-персисторами, разработки новых антибиопленочных препаратов для борьбы с персистирующими инфекциями.

Показано, что бактерии в составе биопленок способны обмениваться плазмидами, мобильными генетическими элементами, несущими гены, определяющие резистентность к антимикробным препаратам. Таким образом, в биопленках реализуется горизонтальный перенос и распространение генов антибиотикорезистентности. Этот процесс дополнительно облегчается плотным расположением клеток в биопленках. Кроме этого, отмечен факт объединения нескольких плазмид в один репликон, что обеспечивает одновременное распространение генетических детерминант множественной антибиотикорезистентности [20]. Например, обмен плазмидами между разными представителями рода *Pseudomonas* в биопленках происходил значительно более активно, чем между теми же микроорганизмами в планктонной культуре [21].

Таким образом, несомненна роль биопленок в увеличении и распространении микроорганизмов, устойчивых к антимикробным препаратам. Особое значение это имеет для клинически значимых патогенов в условиях стационаров, где существуют условия распространения резистентных возбудителей инфекций между пациентами [22–23].

В настоящее время многие исследования указывают на необходимость более углубленного изучения мультифакторных механизмов повышенной устойчивости бактерий в составе биопленок, а также взаимосвязи проявления множественной антибиотикорезистентности и вирулентности патогенов [24–30].

Биопленки и инфекции мочевыводящих путей

Моча у здоровых людей в принципе не должна содержать бактерии. Стерильность урины – показатель здоровья почек и мочевого тракта. Однако при их инфицировании микроорганизмы попадают в мочу и развивается бактериурия. Признаком воспалительного процесса считается наличие бактерий в моче выше 10^5 на 1 мл урины. Сначала бактерии существуют в планктонном состоянии, но под воздействием стрессовых воздействий, в том числе в присутствии биоцидов или антибиотиков, микроорганизмы переходят к прикрепленному методу существования, поскольку биопленочный фенотип обеспечивает устойчивость к воздействию токсичных веществ. В результате создается биопленка, которая в силу своего строения помогает блокировать применение антибиотиков, создает устойчивость к антибиотикам. Именно эти обстоятельства создают трудности при химиотерапии инфекции и заставляют искать антибиопленочные агенты, способные подавлять рост микробной биопленки. Основной причиной ИМВП часто (80–90%) являются уропатогенные *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae*, в то время как другие виды отряда представлены в меньшей степени [31, 32].

Использование имплантатов в урологии растет в геометрической прогрессии. Урологические имплантаты использу-

Таблица. Возбудители инфекций мочевыводящих путей [67–84]

Виды микроорганизмов	Диагноз/протез	Ссылки
<i>E. coli</i> (70–95%), <i>S. saprophyticus</i> (5–10%), <i>P. mirabilis</i> , <i>Klebsiella</i> spp., вирусы папилломы, герпеса, полиомавирус	цистит	35–38
<i>P. mirabilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>Enterobacter</i> spp., <i>S. saprophyticus</i> , <i>Candida</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp., <i>Ureaplasma</i> spp.	пиелонефрит	39, 40, 80–82
<i>S. epidermidis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> , <i>Serratia</i> spp., <i>Corynebacterium</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Propionibacterium</i> spp., <i>Aerococcus</i> spp.	сфинктеры	41, 42, 83, 84
<i>E. coli</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp., <i>Serratia</i> spp.	простатит	67, 68
<i>P. mirabilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>K. pneumoniae</i>	стенты	9, 43, 47–49, 75
<i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. haemolyticus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>E. coli</i> реже – <i>Streptococcus</i> spp., <i>S. aureus</i> , <i>A. baumannii</i> , <i>C. albicans</i> , <i>Mycoplasma hominis</i> , <i>Ureaplasma</i> spp.	камни	51, 76, 77
<i>K. pneumoniae</i> , <i>Enterobacter</i> spp., <i>E. faecalis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>D. tsuruhatensis</i> , <i>A. xylosoxidans</i>	катетеры	26, 55–57, 69–74
<i>G. vaginalis</i> (60–95%), <i>A. vaginae</i>	вагиноз	60, 61, 73
<i>P. mirabilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. lugdunensis</i> , <i>S. marcescens</i> , <i>N. gonorrhoeae</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>Bacteroides</i> , грибы и микобактерии	пенильные протезы	64, 65, 78, 79

ются для коррекции функциональных нарушений и улучшения качества жизни пострадавших пациентов. Урологические имплантаты варьировались от силиконовой трубки с использованием одного биоматериала до комбинации биоматериалов, таких как полимер на металле, металлические и био-разлагаемые стенты [33].

Тем не менее максимальный рост микробных биопленок наблюдается на медицинских имплантах (мочеточниковые катетеры, урологические стенты, сфинктеры и др.). Когда устройство помещается в тело пациента и подвергается воздействию биологических жидкостей, таких как моча, кровь, макромолекулярные компоненты, многие из которых являются белками, они немедленно адсорбируются на устройстве с образованием кондиционирующей пленки. Эта кондиционирующая пленка покрывает устройство и становится поверхностью, на которой происходит дальнейшее образование биопленок. Ведь многие белковые молекулы в кондиционирующей пленке играют активную роль в бактериальной адгезии [34].

Циститы

Точный механизм прикрепления и выживания бактерий в мочевыводящих путях до конца не изучен. Патогенез уропатогенной *E. coli* инициирует связывание бактерий с поверхностными эпителиальными клетками мочевого пузыря. Взаимодействие с эпителием стимулирует отшелушивание поверхностных эпителиальных клеток, вызывая выделение многих патогенных микроорганизмов с мочой. Несмотря на воспалительную реакцию и отшелушивание эпителия, уропа-

тогены способны как поддерживать высокие титры в мочевом пузыре в течение нескольких дней, так и при хронических инфекциях сохраняться в течение длительного периода времени.

Циститы вызываются в основном *E. coli* (70–95%), хотя немаловажны и *Staphylococcus saprophyticus* (5–10%), *Proteus mirabilis*, *Klebsiella* spp. [35, 36]. Циститы могут вызываться не только бактериальной микрофлорой, но и вирусной (низко- и высокоонкогенные папилломовирусы, герпесвирусы и многие другие) [37, 38].

Пиелонефрит

Урогенные бактерии, попавшие в почки, оккупируют ее тканевые структуры. Они вырабатывают гистоповреждающие субстанции (токсины, метаболиты), индуцируют в организме больного воспалительную реакцию и вызывают деструкцию тканевых структур почек. При наличии рубцов почек планктонные бактерии могут достигать почки посредством восходящей инфекции и прикрепляться к уротелию и сосочкам собирающих систем почек. Показано, что бактерии могут прикрепляться тонкими биопленками к уротелию, прежде чем вторгнуться в почечную ткань, что приводит к пиелонефриту. Эти бактериальные биопленки легче уничтожить антимикробными агентами, в отличие от биопленок на поверхности катетера, что может быть связано с эффективным синергическим действием противомикробных агентов и защитными механизмами хозяина против биопленок на уротелии [9, 31, 39, 40].

Искусственные сфинктеры мочевыводящих путей

Около 3% сфинктеров заражаются микроорганизмами [41]. Для снижения риска инфицирования необходимо обеспечить стерильность мочи, исключить возможность длительной задержки мочи и больших остаточных количеств мочевого пузыря, а также избегать ИМВП. Лечение инфицированного сфинктера включает удаление устройства, ликвидацию инфекции и, при необходимости, последующую реимплантацию. Поскольку части устройства образуют одну сплошную поверхность, рекомендуется полностью удалить сфинктер в качестве первого шага для устранения инфекции. Реимплантация должна предшествовать полной обработке инфицированной области [9, 42, 43].

Часто происходит отслоение частиц биопленки после антимикробной терапии, что может привести к распространению биопленки и повторному появлению инфекции, сепсису. Бактериальные клетки, высвобождаемые из биопленки мочеточникового стента или катетера, могут: (1) спуститься к мочевому пузырю и вызвать или регенерировать ранее вылеченный цистит; (2) перемещаться вверх по самому устройству или через рефлюкс мочи, вызванный устройством почки, вызывая пиелонефрит; (3) снова приклеиться к устройству и/или существующей биопленке, увеличивая ее площадь поверхности и плотность; (4) прилипнуть к потенциальному камню в тракте, создавая новый очаг инфекции и потенциально препятствуя вариантам лечения камня [14].

Хронический бактериальный простатит

При хроническом бактериальном простатите восходящая инфекция из уретры в простату может быть спровоцирована

турбулентным режимом кровотока в уретре или внутрипротатическим протоковым рефлюксом. Попадая в протоки предстательной железы и ацинусы, бактерии размножаются и вызывают острую воспалительную реакцию. Если не лечить в этом «планктонном» состоянии, бактерии могут образовывать биопленки, прикрепленные к эпителию системы протоков, с образованием слизи экзополисахарида или защитных оболочек гликокаликса, что приводит к стойкой иммунологической стимуляции и последующим хроническим воспалениям [9, 31]. Хронические простатиты чаще всего связаны с наличием мочеточниковых стентов в организме и образованием биопленок на стенке. Последние годы при лечении хронических простатитов применяют не только антибиотики, но и бактериофаги, ингибиторы ферментов, наночастицы [44, 45].

Биопленки на мочеточниковых стентах JJ

Дренажные стенты обладают превосходной поверхностью для формирования кристаллических отложений, а также прикрепления микроорганизмов. Образование биопленки на мочеточниковых стентах из силикона обнаруживается в 90% случаев стентирования. Стенты колонизируются прилипшими бактериями; частота выявления инфекций мочевыводящих путей в виде бактериурии составляет около 27%. Показана корреляция между продолжительностью имплантации стента и инфекцией. Присутствие биопленки из бактерий, продуцирующих уреазу (*P. mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* spp., *Moraxella catarrhalis*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* и др.) приводит к гидролизу мочевины, повышению pH мочи и отложению инкрустации струвита и фосфата кальция на этих стентах. Клинически инкрустация и инфицирование установленных стентов связаны с закупоркой и сепсисом [9, 46–49].

Зараженные мочевые камни

При мочекаменной болезни образуются уратные, оксалатные или фосфатные камни. В процессе формирования камней в организме человека играют роль не только его минеральные компоненты, но белковые вещества, различающиеся по своему составу в зависимости от минеральной основы камней [50]. При мочекаменной болезни инфекция мочевыводящих путей связана с образованием струвита (фосфат магния-аммония) и кальций-фосфатных камней. Исходным событием является прилипание продуцирующих уреазу бактерий к кальциевым камням, инородным телам (включая уретральные катетеры и стенты JJ) или рубцам слизистой оболочки почек или мочевого пузыря. Уреазапродуцирующие бактерии представлены такими уропатогенами, как *E. faecalis*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Streptococcus haemolyticus* и *P. mirabilis* [51].

Кристаллы струвита и фосфата кальция осаждаются преимущественно в щелочной среде мочи и откладываются на биопленках. Камни быстро растут с добавлением большего количества бактерий, образованием матрикса и дальнейшим отложением кристаллов. Поскольку бактерии защищены камнями среди кристаллов и бактериального внеклеточного матрикса, противомикробные агенты неэффективны в искоренении инфекции. Кроме того, лечение антибиотиками

приводит к изменению микробиоты мочевыводящих путей, что может увеличить риск рецидивов образования камней. Это подчеркивает важность полного очищения от камней и искоренения инфекции мочевыводящих путей для предотвращения быстрого рецидива камне [9, 52–54].

Постоянные уретральные катетеры

Мочевые катетеры являются мишенями для развития биопленок на их внутренней и внешней поверхности после их введения. Внепросветным путем микроорганизмы поднимаются по катетеру во время введения катетера. Эти бактерии в основном эндогенные и происходят из желудочно-кишечного тракта. Они колонизируют промежность пациента и поднимаются по уретре после введения катетера. Бактерии могут подниматься по катетеру также внутрисветным путем, что происходит, когда организмы получают доступ к внутреннему просвету катетера. Постоянные уретральные катетеры в 30–80% случаев играют роль входных ворот для госпитальных инфекций и являются основным фактором риска развития ИМВП. У пациентов с постоянным уретральным катетером часто возникают различные осложнения: острый пиелонефрит, цистит, эпидидимит, абсцессы простаты, бактериемия, септицемия, стриктуры уретры [31, 55].

Чаще всего от катетеризованных пациентов выделяются штаммы *Enterococcus faecalis*, *P. aeruginosa* и *E. coli*, а самыми сильными продуцентами биопленок являются *Acinetobacter baumannii*, *P. mirabilis*, *E. faecalis*, *Candida tropicalis* и *Staphylococcus aureus* [26, 56]. Особый интерес представляют обнаруженные на поверхности катетеров мультивидовые ассоциации микроорганизмов, участвующие в формировании общей биопленки. Взаимное влияние участников ассоциаций друг на друга может вызывать повышение вирулентной активности штаммов, в том числе и антибиотикорезистентность, и, как следствие, отягощать клинические проявления заболевания [57].

Бактериальный вагиноз

Флора влагалища здоровых женщин состоит преимущественно из грамположительных лактобацилл [58, 59]. Микробиота влагалища женщин с бактериальным вагинозом (БВ) составляет микробное разнообразие, которое вытесняет *Lactobacillus* и состоит преимущественно из *Gardnerella vaginalis*, который является одним из ключевых факторов патогенеза БВ, а также высокой частоты рецидивов болезни. При изучении патологических вагинальных биопленок удалось выявить синергизм аэрофильных микроорганизмов вида *G. vaginalis*, которые обычно составляют 60–95% популяции, и облигатно-анаэробных бактерий вида *Atopobium vaginae*, представительство которых в составе таких биопленок может составлять от 1 до 40% [60, 61]. Эти биопленки достаточно устойчивы к антибактериальной терапии. Показано, что возможно возрождение плотных бактериальных биопленок через 1 нед. после прекращения лечения метронидазолом. Эти данные убедительно подтверждают, что аэробный вагинит и вагиноз высокоустойчивы к антибактериальной терапии за счет формирования поливидовых биопленок. Одним из методов борьбы с вагинозом может служить восстановление нормальной вагинальной микрофлоры с помощью пробиотических штаммов лактобацилл [62].

Пенильные протезы

Большинство инфекций протеза полового члена возникает вследствие посева бактерий во время операции. Поэтому при проведении операции нужно учитывать возможность такого инфицирования и проводить серьезную предоперационную профилактику инфекции, подбирая соответствующий антибиотик для ее предупреждения [63]. Частота инфицирования протезов полового члена составляет ≈2%, причем наиболее распространенным микроорганизмом является *Staphylococcus epidermidis*, на который приходится 35–56% инфекций. Грамотрицательные кишечные бактерии, включая *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli* и *Serratia marcescens*, составляют 20% инфекций. Грамотрицательная бактериальная инфекция имеет тенденцию проявляться клинически в течение месяца после имплантации, по сравнению с пятью месяцами при стафилококковых инфекциях. При тяжелых инфекциях грамотрицательные бактерии могут действовать синергетически с анаэробными микроорганизмами, такими как *Bacteroides*, и приводить к гангрене полового члена. Сообщалось о заражении протезов полового члена грибами, микобактериями и *Neisseria gonorrhoeae* [64–66].

Методы борьбы с микробными биопленками

Для поиска антибиопленочных агентов нужно понимать причины повышенной устойчивости к биоцидам микробных биопленок по сравнению с планктонными культурами этих же микроорганизмов. Одним из главных факторов устойчивости является внеклеточный полимерный матрикс (ВПМ), экранирующий локализованные в биопленке микробные клетки от стрессовых воздействий как химической, так и физико-химической природы. Поэтому нарушение структуры матрикса является одним из наиболее эффективных способов борьбы с биопленками, а при поиске антибиопленочных агентов в первую очередь следует уделять внимание веществам, препятствующим синтезу компонентов ВПМ или нарушающим его структуру [15, 26–28].

Наиболее перспективными представляются следующие направления борьбы с биопленками: (1) предотвращение первичного инфицирования имплантов; (2) минимизация начальной адгезии микробных клеток; (3) разработка методов проникновения через матрикс биопленки биоцидов с целью подавления активности клеток внутри биопленки; (4) блокировка синтеза или разрушение матрикса; (5) нарушение межклеточного обмена информацией (ингибирование регуляции кворум-сенсинга).

Ученые проявляют постоянный интерес к модификации поверхности и нанесению покрытий на урологические импланты с использованием трех основных стратегий защиты от биопленки: (1) механическое отслоение; (2) уничтожение микробных клеток и (3) создание поверхностей с низкой адгезией. Следует отметить, что материал, из которого изготовлена колонизируемая бактериями поверхность, его физико-химические свойства (гидрофильность, электрический заряд, инертность, гладкость) играют важную роль в возможности и скорости образования биопленок. Нужна разработка медицинских материалов, менее подверженных бактериальной колонизации, а также поиск эффективных способов предупреждения адгезии бактерий на внедренные медицинские устройства [85, 86].

Сейчас наблюдаются некоторые новые тенденции, такие как дополнительная антимикробная защита за счет покрытия и динамики потока; биоразлагаемые покрытия, выделяющие антимикробный агент; неизвлекаемые поверхностные покрытия, доставляющие лекарство или противомикробный агент, а также новые углеродные и на основе серебра биоразлагаемые материалы; бактериофаги и коктейли с фагами. Эти новые инженерные решения для поверхностей показывают снижение до некоторой степени образования биопленок и инкрустации биоматериалов и урологических имплантов, но ни одно из них не может полностью остановить их развитие [87, 88].

Предотвращение адгезии клеток можно вызвать при введении в систему гидрофобных агентов, которые тормозят взаимодействие бактерий с субстратом. Это наблюдалось, например, в присутствии *p*-нитрофенола, который почти полностью подавлял адгезию *P. aeruginosa* в культуре пневмоцитов человека [89]. В настоящее время разработаны препараты, обладающие способностью вызывать отторжение биопленок. Таким препаратом является *N*-ацетилцистеин: он активирует процессы дисперсии, разобщает сигналы регуляции активации генов, отвечающих за плотность популяции бактерий в пленке; разрушает структуру внеклеточного матрикса, ингибирует продукцию слизи. Это позволяет рассматривать его в качестве перспективного неантибактериального компонента терапии инфекций, связанных с образованием биопленок. Было показано, что при его использовании уменьшается биопленок, продуцируемых *S. aureus*, происходит за счет снижения объема мукополисахаридной составляющей внеклеточного матрикса.

В состав *N*-ацетилцистеина входит моносахар *D*-манноза, она помогает сразу перехватывать бактериальные клетки, которые высвобождаются из патогенной биопленки, и не позволяет им повторно прикрепляться к слизистой оболочке. Часто маннозу используют совместно с антибиотиками в терапии уропатогенных инфекций [90]. Имеется информация об использовании в клинической практике антиадгезивных соединений – бифенил-маннозидов, направленных на предотвращение инфекций мочеполового тракта, вызванной уропатогенной *E. coli* и *A. baumannii* [91–93].

Исследования некоторых ученых предполагают, что аминокислоты могут играть роль в ингибировании или стимулировании образования биопленок. Что касается образования биопленок *E. coli*, то лейцин и валин способствовали этому максимум на 25%. Однако глицин, лизин, фенилаланин и треонин ингибировали образование биопленок; пролин и аргинин проявляли ингибирующее действие только при более высоких концентрациях (0,4%). Было показано, что образованию биопленки *P. aeruginosa* и ряда других бактерий препятствует комплекс *D*-аминокислот (*D*-тирозин, *D*-лейцин, *D*-триптофан, *D*-метионин). Предполагают, что их действие зависит от включения *D*-аминокислот в пептидные цепи пептидогликана (вместо концевой *D*-аланина), что препятствует формированию адгезивных связей с субстратом [94, 95].

Комплекс *D*-аминокислот (клагид) в субтерапевтических концентрациях нарушает формирование биопленок *P. aeruginosa* и уменьшает объем внеклеточного матрикса, снижает двигательную активность *P. aeruginosa*. В итоге это

приводит к снижению вирулентности и существенному повышению эффективности специфических антисинегнойных препаратов, разрушает матрикс пленки, облегчая доступ другим антибиотикам. Очевидно, что возможно использование пищевых добавок на основе аминокислот для контроля образования бактериальных биопленок [96].

Бактериальные клетки, расположенные в биопленке, защищены от антибактериальных эндо- и экзофакторов благодаря ВПК, основу которого составляют бактериальные полисахаридные соединения, синтезируемые самими бактериями. Ферменты, которые расщепляют полисахаридные полимеры, вызывают разрушение бактериальных биопленок. Для инициирования диспергирования биопленок микроорганизмы наряду с другими ферментами используют специфические гликозидгидролазы, которые разрушают полисахариды бактериальных биопленок. Гликозидгидролазы реализуют свое действие через гидролиз гликозидных связей. Основными гликозидгидролазами, которые обладают антибиопленочным действием, являются: α -лизоцим, амилазы, дисперсин В, целлюлазы, гиалуронидаза, α - и β -маннозидазы, альгинат-лиазы. Полиферментные препараты, содержащие смеси ферментов лиаз и гидролаз из группы карбогидраз, в присутствии или без дополнительных функциональных и технологических компонентов эффективно и быстро разрушают экзополисахаридную основу матрикса биопленок, свежесформированных или давно сформированных на абиотических поверхностях. Данные ферменты вызывают разрушение полисахаридных полимеров, способствуя высвобождению бактерий и более эффективному воздействию антибактериальных агентов на бактерии. Медикаментозные методы диспергирования биопленок при помощи полисахаридразрушающих ферментов, без сомнения, расширяют арсенал антибиопленочной терапии хронических и рецидивирующих бактериальных инфекций, особенно вызванных антибиотикорезистентными бактериями [97, 98].

Внеклеточная ДНК матрикса биопленок также может быть мишенью для борьбы с биопленками, для этого могут быть использованы различные ДНКазы. К ферментам, разрушающим матрикс биопленки, относятся протеазы дезоксирибонуклеазы (ДНКазы). Использование ДНКаз предотвращает образование биопленки представителями рода *Staphylococcus* и *Enterococcus in vitro*. В настоящий момент проводятся исследования по определению возможности использования различных антибиопленочных агентов в клинической практике. Из числа таких препаратов выделяют средства, хелатирующие железо: этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA), дефероксамин, лактоферрин; поверхностно-активные вещества: ксилит, фарнезол; ферменты, разрушающие матрикс биопленок: дисперсин В; сигнальные молекулы, активирующие депрессию биопленки: полиненасыщенные жирные кислоты, оксид азота [99].

Одним из перспективных направлений в лечении ИМВП считается системная энзимотерапия, показавшая свою эффективность в лечении циститов. Результаты применения такого фермента, как флогензим, показали положительную динамику при лечении циститов в комплексе с антибиотиками [100]. Были проведены работы по использованию нейтрофилов для борьбы с биопленками, образуемые кишечной палочкой. Нейтрофилы обрабатывали различными гормона-

ми беременных женщин и проверяли их влияние на обструкцию биопленок. Оказалось, что гормоны, продуцируемые плацентой во время беременности, способны избирательно и эффективно модулировать функциональную активность нейтрофилов при взаимодействии с биопленками при ИМВП. В других работах показано влияние на разрушение биопленок и с помощью нейтрофилов, обработанных гормонами небеременных женщин [101].

В последнее время внимание исследователей было обращено также на возможность использования бактериофагов для разрушения клеток в составе биопленок [102]. Описаны методы лечения бактериофагами биопленочных циститов, уретритов и пиелонефритов, вызванных *E. coli* и *P. mirabilis*. Проникая через каналы в биопленке, бактериофаги встраиваются в клетки бактерий и вызывают их лизис, таким образом деградируя матрицы биопленки. Положительный результат лечения от штаммов *E. coli* с помощью бактериофагов составил 70% случаев [103]. Но и при такой терапии может возникать устойчивость уже к фагам. Тогда применяют смесь (коктейль) фагов для различных видов бактерий. Это может быть эффективным для предотвращения восстановления биопленок клетками, устойчивыми к фагу. Добавление антибиотиков при терапии фагами уменьшает случаи возникновения фагорезистентных бактерий [104–106]. Показано, что бактериофаги способны не только выделять ферменты, разрушающие матрикс биопленки. Они также заражают и клетки-персисторы, устойчивые ко многим антибиотикам [107, 108].

Описан ряд антибактериальных факторов, подавляющих образование биопленок бактерий. Например, лактоферрин в присутствии антибиотика ципрофлоксацина ингибирует образование биопленок *P. aeruginosa*; антибиотик батумин, образуемый *P. batumici*, подавлял образование биопленок стафилококков. Но кроме антибиотиков, практически все бактерии образуют бактериоцины: это группа гетерогенных антибиотикоподобных веществ, преимущественно белковой природы, которые синтезируются большинством бактерий и характерны бактерицидным действием на представителей филогенетически близких видов. Показана возможность использования бактериоцина *P. aeruginosa* – пиоцианина – как противомикробного средства против многочисленных патогенов, что предполагает его использование для лечения заболеваний, вызванных ими. При использовании бактериоцинов кишечной палочки (колицинов) для лечения инфекций установлено, что они были более эффективны, чем антибиотики. При этом колицины для человеческих клеток менее токсичны по сравнению с антибиотиками. Возможно, колицины могут в некоторых случаях заменить антибиотики или стать дополнением к ним для более эффективного лечения [109–111].

Примечательно, что ген иерсиниабактина (*fyuA*) и ген азробактина (*aerG*) часто встречаются среди штаммов, приводящих к рецидиву. Следовательно, это может быть важным клиническим фактором, когда принимается решение о плане лечения, но большое количество генов, которые ранее предлагалось связать с производством биопленок, предполагает, что молекулярные анализы биопленок вряд ли будут использоваться в диагностической лаборатории в ближайшем будущем [112].

В борьбе с биопленками используют поверхностные акустические волны низкой энергии. Было продемонстрировано, что они препятствуют адгезии планктонных микроорганизмов на клеточные поверхности. Эти волны снижают образование биопленки на сегментах катетера из суспензий с несколькими грамотрицательными и грамположительными бактериями, а также грибами, что указывает на их эффективность против широкого спектра микроорганизмов [113].

Одним из новых стратегических методов борьбы с биопленками является использование различных наночастиц. Это наночастицы Au, Ag, Cu, Ag + Cu, которые уменьшают биопленкообразование. Это и нитрид, и оксид железа в борьбе с биопленками *P. aeruginosa*, а также нанокompозиты «серебро + диоксид титана». Очевидно, что существенные перспективы может дать в будущем применение лекарственных средств на основе наноматериалов в различных областях медицины [114–118].

Одной из задач антибиотикотерапии по улучшению воздействия на биопленки является совершенствование способов их доставки. Таким способом может служить использование липосом. Липосомы с их гибкими физико-химическими и биофизическими свойствами изучаются как потенциал в качестве важнейшей системы доставки лекарств. Так, было показано, что липосомальный комплекс амфотерицина В обладает выраженной активностью по отношению к резистентным клеткам *Candida spp.*, что позволяет использовать его при системных микозах [119]. Применение биосовместимых наномикробных препаратов, ассоциированных с липосомами, представляет собой многообещающий подход для улучшения доставки лекарств к бактериальным клеткам и биопленкам. Обсуждаются различные стратегии, направленные на уничтожение существующих биопленок и предотвращение образования биопленок [120–122].

Некоторые авторы для доставки антимикробного препарата нитрофурантоина применяли другой носитель. Они вводили прямо в мочевой пузырь микрочастицы полимолочно-гликолевой кислоты. Такой комплекс был более эффективен для лечения ИМВП, чем антимикробный препарат без носителя [123].

В исследованиях установлено, что уротелий содержит большое количество иммунных факторов, обеспечивающих в естественных условиях его защиту от неблагоприятного действия различных уропатогенов. Среди компонентов врожденного иммунитета имеются перспективные в плане дальнейшего терапевтического использования молекулы – антимикробные пептиды. Они представлены несколькими классами и являются эволюционно старейшими молекулами врожденного иммунитета. Исследования показывают их эффективность в качестве терапевтических средств против ИМВП [124].

Среди такого разнообразия методов борьбы с биопленками невозможно найти универсальный метод. Исходя из этого, авторы [125] предложили следующую стратегию поиска антибиопленочных препаратов. Антибиопленочные агенты можно подразделить на 4 основных класса.

Класс 1. Существуют антибиопленочные агенты (некоторые антибиотики), способные проникать через ВГМ и подавлять рост клеток с «биопленочным» фенотипом. Они активны и против планктонных культур и формирующихся био-

пленок. В отношении «зрелых» биопленок с сильно развитым матриксом их активность ниже. Примером может служить антибиотик азитромицин.

Класс 2. Это «классические» агенты, предотвращающие формирование биопленочного фенотипа (подавляющие экспрессию специфических генов, определяющих формирование «прикрепленного» способа существования). К ним относятся, в первую очередь, вещества, препятствующие функционированию глобальных регуляторных систем (системы quorum sensing, системы, зависимой от цикло-ди-ГМФ и др.). В идеальном случае такие вещества подавляют рост биопленок на начальных стадиях формирования «биопленочного» фенотипа и не должны влиять на рост и метаболизм планктонных культур, а также «зрелых» биопленок. Этот класс антибиопленочных агентов очень гетерогенен. К нему относятся как ингибиторы, преимущественно подавляющие рост бактерии с биопленочным фенотипом, так и ингибиторы, преимущественно подавляющие синтез ВПМ. Многие из соединений, относящихся к этому классу, проявляют ингибиторную активность и в отношении планктонных культур микроорганизмов, в том числе, как мы уже отмечали, «классические» антибиопленочные вещества – фураноны, которые подавляют рост не только биопленок, но и планктонных культур, особенно в случае грамположительных бактерий.

Класс 3. Отдельную группу антибиопленочных агентов составляют вещества, активирующие процесс естественной дисперсии как этапа развития зрелых биопленок. Примерами могут служить окись азота (NO), а также цис-2-деценная кислота.

Класс 4. Это вещества, вызывающие принудительное разрушение «зрелых» биопленок. К ним относятся ферменты, гидролизующие биополимеры ВПМ (нуклеазы, протеиназы, полисахаридгидролазы), поверхностно-активные вещества (сурфактанты), а также некоторые малые молекулы, повышающие проницаемость ВПМ. Сами по себе они, как правило, не обладают заметными антимикробными свойствами, но делают микроорганизмы внутри биопленок доступными для биоцидов. В последнее время как средства борьбы со зрелыми биопленками привлекают большое внимание антимикробные пептиды, также входящие в данный класс агентов.

Выводы

На сегодняшний день образование биопленок госпитальными штаммами бактерий является серьезной угрозой для практического здравоохранения. Современные представления о биопленках требуют изменения подходов к диагностике и лечению инфекций в самых различных областях медицины. Терапевтическое воздействие на биопленки может быть направлено на механизмы первоначальной адгезии бактерий к поверхности, блокирование синтеза или разрушение полимерного матрикса, нарушение межклеточного обмена информацией, а также может сочетаться с собственно бактерицидными агентами. Подобное лечение, действующее на структуру или функции биопленок, может оказаться более эффективным, чем стандартная антибактериальная терапия.

Поэтому разрабатываются новые подходы для идентификации биопленок, определения реакций иммунного ответа на инфекции, связанные с микробными сообществами,

ведется разработка новых антибиотиков, меняется тактика антибиотикотерапии, а также осуществляется поиск ингибиторов межклеточной сигнализации, ферментов и других методов разрушения и инактивации биопленок. На современном этапе дальнейшее исследование микробных сообществ, методов их идентификации, а также разработка способов лечения инфекционно-воспалительных процессов в зависимости от способности возбудителя формировать биопленки являются актуальными задачами, соответствующими требованиям современной медицины и в полной мере отвечающими требованиям текущего момента.

В качестве важнейшей перспективы дальнейшего исследования антибиопленочных агентов необходимо целенаправленно искать ингибиторы глобальных регуляторных систем, определяющих на уровне транскрипции переход к биопленочному фенотипу.

Однако, несмотря на большое количество работ в этом направлении и важность проблемы, до сих пор не найдено препаратов, которые могли бы специфически и полностью подавлять образование биопленок и убивать бактерии внутри биопленок, вызывая при этом деградацию биопленки, разрушая ее матрикс. Эта проблема требует дальнейших разработок.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Financial support

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

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

1. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol.* 1995;49:711-745. DOI: 10.1146/annurev.mi.49.100195.003431
2. Chole RA, Faddis BT. Anatomical evidence of microbial biofilms in tonsillar tissues: a possible mechanism to explain chronicity. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2003;129(6):634-6. DOI: 10.1001/archotol.129.6.634
3. Struthers JK. The use of a continuous culture system to study the antimicrobial susceptibility of bacteria in biofilm. *Methods Mol Med.* 2001;48:215-25. DOI: 10.1385/1-59259-077-2:215
4. Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol.* 2004;2(2):95-108. DOI: 10.1038/nrmicro821
5. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15(2):167-93. DOI: 10.1128/cmr.15.2.167-193.2002
6. Jacobsen SM, Stickler DJ, Mobley HL, Shirtliff ME. Complicated catheter-associated urinary tract infections due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. *Clin Microbiol Rev.* 2008;21(1):26-59. DOI: 10.1128/CMR.00019-07
7. Behzadi P, Urbán E, Gajdác M. Association between Biofilm-Production and Antibiotic Resistance in Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC): An *In Vitro* Study. *Diseases.* 2020;8(2):17. DOI: 10.3390/diseases8020017

8. Урология. Российские клинические рекомендации. Под ред. Аляева ЮГ, Глыбочко ПВ, Пушкаря ДЮ. М., 2017, 544 с.
9. Choong S, Whitfield H. Biofilms and their role in infections in urology. *BJU Int.* 2000;86(8):935-41. DOI: 10.1046/j.1464-410x.2000.00949.x
10. Sutherland IW. The biofilm matrix – an immobilized but dynamic microbial environment. *Trends Microbiol.* 2001;9(5):222-7. DOI: 10.1016/s0966-842x(01)02012-1
11. Rumbaugh KP, Griswold JA, Hamood AN. The role of quorum sensing in the *in vivo* virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbes Infect.* 2000;2(14):1721-31. DOI: 10.1016/s1286-4579(00)01327-7
12. Abraham WR. Controlling biofilms of gram-positive pathogenic bacteria. *Curr Med Chem.* 2006;13(13):1509-24. DOI: 10.2174/092986706777442039
13. Cernohorská L, Votava M. Biofilmy a jejich význam v lékařské mikrobiologii [Biofilms and their significance in medical microbiology]. *Epidemiol Mikrobiol Imunol.* 2002;51(4):161-4. (In Czech).
14. Tenke P, Köves B, Johansen TE. An update on prevention and treatment of catheter-associated urinary tract infections. *Curr Opin Infect Dis.* 2014;27(1):102-7. DOI: 10.1097/QCO.000000000000031
15. Hall CW, Mah TF. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiol Rev.* 2017;41(3):276-301. DOI: 10.1093/femsre/fux010
16. Рязанцев ВЕ, Власов ВВ, Румянцев ФВ, Киушкин ВО. Динамика антибиотико-резистентности у больных урологического профиля. Эффективная фармако-терапия. 2020;16(3):8-13. DOI: 10.33978/2307-3586-2020-16-3-8-13
17. Ножевникова АН, Бочкова ЕА, Плакунов ВК. Мультивидовые биопленки в экологии, медицине и биотехнологии. *Микробиология.* 2015;84(6):623-644.
18. Николаев ЮА, Панкратов ТА, Ганнесен АВ, Колганова ТВ, Сузина НЕ, Дёмкина ЕВ, Эль-Регистан ГИ. Образование и свойства клеток-персистеров бактерий, обитателей кожи человека *S. capitis*, *S. epidermis*. *Микробиология.* 2020;89(4):432-443. DOI: 10.31857/S0026365620040114
19. Льюис К. Персистирующие клетки и загадки выживания биопленок. *Биохимия.* 2005;70(2):329-366.
20. El Salabi A, Walsh TR, Chouchani C. Extended spectrum β -lactamases, carbapenemases and mobile genetic elements responsible for antibiotics resistance in Gram-negative bacteria. *Crit Rev Microbiol.* 2013;39(2):113-122. DOI: 10.3109/1040841X.2012.691870
21. Ory J, Bricheux G, Robin F, Togola A, Forestier C, Traore O. Biofilms in hospital effluents as a potential crossroads for carbapenemase-encoding strains. *Sci Total Environ.* 2019;657:7-15. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.11.427
22. Фурсова НК, Прямыч СД, Абаев ИВ, Ковалёв ЮН, Шишкова НА, Печерских ЭИ, и др. Генетическое окружение генов *blaCTX-M*, локализованных на конъюгативных плазидах нозокомиальных изолятов *Enterobacteriaceae*, выделенных в России в 2003–2007 гг. Антибиотики и химиотерапия. 2010;55(11-12):3-10.
23. Segura WD, Ramos HP, de Faria Blanc Amorim RE, da Silva Ribeiro AC, Pereira EC, Cayô R, Gales AC, Piantino Ferreira AJ, da Rocha Minarini LA. *In vitro* and *in vivo* persistence of IncN plasmids carrying *qnr* genes in uropathogenic *Escherichia coli* isolates. *J Glob Antimicrob Resist.* 2020;22:806-810. DOI: 10.1016/j.jgar.2020.07.006
24. Zhao F, Yang H, Bi D, Khaledi A, Qiao M. A systematic review and meta-analysis of antibiotic resistance patterns, and the correlation between biofilm formation with virulence factors in uropathogenic *E. coli* isolated from urinary tract infections. *Microb Pathog.* 2020;144:104196. DOI: 10.1016/j.micpath.2020.104196
25. Yadav MK, Song J-J, Singh BP, Vidal JE. Microbial biofilms and human disease: A concise review. In: Yadav MK, Singh BP (eds). *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering; Current Research and Future Trends in Microbial Biofilms.* Elsevier; Amsterdam, The Netherlands: 2020; pp. 1-13.
26. Colquhoun JM, Rather PN. Insights Into Mechanisms of Biofilm Formation in *Acinetobacter baumannii* and Implications for Uropathogenesis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10:253. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00253
27. Karigoudar RM, Karigoudar MH, Wavare SM, Mangalgi SS. Detection of biofilm among uropathogenic *Escherichia coli* and its correlation with antibiotic resistance pattern. *J Lab Physicians.* 2019;11(1):17-22. DOI: 10.4103/JLP.JLP_98_18
28. Whelan S, O'Grady MC, Corcoran D, Finn K, Lucey B. Uropathogenic *Escherichia coli* Biofilm-Forming Capabilities are not Predictable from Clinical Details or from Colonial Morphology. *Diseases.* 2020;8(2):11. DOI: 10.3390/diseases8020011
29. Singh S, Singh SK, Chowdhury I, Singh R. Understanding the Mechanism of Bacterial Biofilms Resistance to Antimicrobial Agents. *Open Microbiol J.* 2017;11:53-62. DOI: 10.2174/1874285801711010053
30. Neupane S, Pant ND, Khatiwada S, Chaudhary R, Banjara MR. Correlation between biofilm formation and resistance toward different commonly used antibiotics along with extended spectrum beta lactamase production in uropathogenic *Escherichia coli* isolated from the patients suspected of urinary tract infections visiting Shree Birendra Hospital, Chhauni, Kathmandu, Nepal. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2016;5:5. DOI: 10.1186/s13756-016-0104-9
31. Перепанова ТС. Значение инфекций, обусловленных образованием биопленки, в урологической практике. Эффективная фармако-терапия. 2013;37:18-27.
32. Lundeen C, Scotland KB. Urologic Devices: Infection and Encrustation. In: Lange D, Scotland K (eds). *The Role of Bacteria in Urology.* Springer, Cham. 2019. DOI: 10.1007/978-3-030-17542-9_15
33. Barros AA, Oliveira C, Lima E, Duarte ARC, Healy KE, Reis RL. Ureteral Stents Technology: Biodegradable and Drug-Eluting Perspective. Reference Module in Materials Science and Materials Engineering. 2017;7:793-812.
34. Stoica P, Chifiriuc MC, Rapa M, Lazăr V. Overview of biofilm-related problems in medical devices, Biofilms and Implantable Medical Devices. 2017;3-23. DOI: 10.1016/B978-0-08-100382-4.00001-0
35. Балушкина АА, Тютюнник ВЛ. Терапия инфекций мочевых путей. Медицинский совет. 2019;7:87-92. DOI: 10.21518/2079-701X-2019-7-87-92
36. Малафеева ЭВ, Гульнова МЮ. Формирование биопленок оппортунистическими микроорганизмами. Научное обозрение. Медицинские науки. 2020;4:65-69.
37. Ибишев ХС, Крохоткин ДВ, Васильев АА, Крайний ПА. Рецидивирующая инфекция нижних мочевых путей вирусной этиологии. Вестник урологии. 2017;5(1):26-31. DOI: 10.21886/2306-6424-2017-5-1-26-31
38. Крохоткин ДВ, Иванов СН, Набока ЮЛ, Коган МИ, Гудима ИА, Ильеш АВ, и др. Вирусные патогены при урологических заболеваниях. Медицинский вестник Юга России. 2018;9(4):14-21. DOI: 10.21886/2219-8075-2018-9-4-14-21
39. Vysakh A, Midhun SJ, Jayesh K, Jyothis M, Latha MS. Studies on biofilm formation and virulence factors associated with uropathogenic *Escherichia coli* isolated from patient with acute pyelonephritis. *Pathophysiology.* 2018;25(4):381-387. DOI: 10.1016/j.pathophys.2018.07.004
40. Атанасова ЮВ, Топальский ДВ, Лагун ЛВ. Формирование биопленок у возбудителей острого и хронического пиелонефрита. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2013;3:18-23.
41. Mohammed A, Khan A, Shaikh T, Shergill IS, Junaid I. The artificial urinary sphincter. *Expert Rev Med Devices.* 2007;4(4):567-75. DOI: 10.1586/17434440.4.4.567
42. Bryan DE, Mulcahy JJ, Simmons GR. Salvage procedure for infected noneroded artificial urinary sphincters. *J Urol.* 2002;168(6):2464-6. DOI: 10.1097/01.ju.0000036436.69699.19
43. Soto G, Sara M. Importance of Biofilms in Urinary Tract Infections: New Therapeutic Approaches *Advances in Biology.* 2014; 1-13. DOI:10.1155/2014/543974
44. Delcaru C, Alexandru I, Podgoreanu P, Grosu M, Stavropoulos E, Chifiriuc MC, Lazar V. Microbial Biofilms in Urinary Tract Infections and Prostatitis: Etiology, Pathogenicity, and Combating strategies. *Pathogens.* 2016;5(4):65. DOI: 10.3390/pathogens5040065
45. Vranová V. The importance of phytopharmaceuticals in treating chronic prostatitis. *Urologie pro praxi.* 2019;20(2):58-61. DOI: 10.36290/uro.2019.050

46. Morris NS, Stickler DJ, McLean RJ. The development of bacterial biofilms on indwelling urethral catheters. *World J Urol.* 1999;17(6):345-50. DOI: 10.1007/s003450050159
47. Chew BH, Seitz C. Impact of ureteral stenting in ureteroscopy. *Curr Opin Urol.* 2016;26(1):76-80. DOI: 10.1097/MOU.0000000000000234
48. Цуканов АЮ, Ахметов ДС, Блесман АИ, Рогачёв ЕА. Влияние поверхности мочеточникового стента на инкрустацию и формирование биопленок. *Урология.* 2018;(2):40-45. DOI:10.18565/urology.2018.2.40-45
49. Цуканов АЮ, Ахметов ДС, Новиков АА, Негров ДА, Путинцева АР. Профилактика инкрустации и образования биопленок на поверхности мочеточникового стента. Часть 1. Экспериментальная и клиническая урология. 2020;3:176-181. DOI: 10.29188/2222-8543-2020-12-3-176-181
50. Амосова ОЕ, Шанина СН, Каткова ВИ. Статистический анализ аминокислотного состава уролитов жителей Республики Коми. *Известия Коми научного центра УРО РАН.* 2019;4(40):37-44. DOI: 10.19110/1994-5655-2019-4-37-44
51. Эгамбердиев ДК. Роль инфекции мочевых путей в генезе камней почек. Дисс. ... канд. мед. наук. М., 2013, 120 с.
52. Eisner BH, Deshmukh SM, Lange D. Struvite Stones: Urinary Stones: Medical and Surgical Management. 2014;48-56. DOI:10.1002/9781118405390.ch5
53. Marien T, Miller NL. Treatment of the Infected Stone. *Urol Clin North Am.* 2015;42(4):459-472. DOI:10.1016/j.ucl.2015.05.009
54. Zampini A, Nguyen AH, Rose E, Monga M, Miller AW. Defining Dysbiosis in Patients with Urolithiasis. *Sci Rep.* 2019;9(1):5425. DOI: 10.1038/s41598-019-41977-6
55. Lo E, Nicolle LE, Coffin SE, Gould C, Maragakis LL, Meddings J, et al. Strategies to prevent catheter-associated urinary tract infections in acute care hospitals: 2014 update. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2014;35 Suppl 2:S32-47.
56. Holá V, Ruzicka F, Horka M. Microbial diversity in biofilm infections of the urinary tract with the use of sonication techniques. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2010;59(3):525-8. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2010.00703.x
57. Лисовская СА, Хабипова НН, Валева ЛР, Шарипова МР, Халдеева ЕВ, Хазеева КК. Оценка видов микроорганизмов, встречающихся в медицинской практике и образующих биопленки на медицинских катетерах. *Журнал Медиаль.* 2018;2(22):12-15.
58. Сторчак АВ, Грищенко ОВ. Проблемные вопросы восстановления биоценоза влагилица. *Охрана материнства и детства.* 2017;2(30):67-75.
59. Costerton JW. The microbiology of the healthy human body: The Biofilm Primer., Springer. New York. 2007;108-127.
60. Bradshaw CS, Tabrizi SN, Fairley CK, Morton AN, Rudland E, Garland SM. The association of *Atopobium vaginae* and *Gardnerella vaginalis* with bacterial vaginosis and recurrence after oral metronidazole therapy. *J Infect Dis.* 2006;194(6):828-836. DOI: 10.1086/5066621
61. Swidsinski A, Mendling W, Loening-Baucke V, Swidsinski S, Dörffel Y, Scholze J, Lochs H, Verstraelen H. An adherent *Gardnerella vaginalis* biofilm persists on the vaginal epithelium after standard therapy with oral metronidazole. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;198(1):97.e1-6. DOI: 10.1016/j.ajog.2007.06.039
62. Гусак ЮК, Рищук СВ, Тарасов ВН, Гусак ВН. Инфекционные заболевания влагилица. Поиски оптимального решения в их терапии. Защита или нападение? *Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание.* 2019;13(4):22-40. DOI:10.24411/2075-4094-2019-16485
63. Tenke P, Köves B, Nagy K, Hultgren SJ, Mendling W, Wullt B, et al. Update on biofilm infections in the urinary tract. *World J Urol.* 2012;30(1):51-7. DOI: 10.1007/s00345-011-0689-9
64. Mulcahy JJ, Köhler TS, Wen L, Wilson SK. Penile implant infection prevention part II: device coatings have changed the game. *Int J Impot Res.* 2020. DOI:10.1038/s41443-020-0338-1
65. Silverstein AD, Henry GD, Evans B, Pasmore M, Simmons CJ, Donatucci CF. Biofilm formation on clinically noninfected penile prostheses. *J Urol.* 2006;176(3):1008-11. DOI: 10.1016/j.juro.2006.04.034
66. Kavoussi NL, Siegel JA, Viers BR, Pagliara TJ, Hofer MD, Cordon BH, et al. Preoperative Urine Culture Results Correlate Poorly With Bacteriology of Urologic Prosthetic Device Infections. *J Sex Med.* 2017;14(1):163-168. DOI: 10.1016/j.jsxm.2016.10.017
67. Brede CM, Shoskes DA. The etiology and management of acute prostatitis. *Nat Rev Urol.* 2011;8(4):207-12. DOI: 10.1038/nrurol.2011.22
68. Millán-Rodríguez F, Palou J, Bujons-Tur A, Musquera-Felip M, Sevilla-Cecilia C, Serrallach-Orejas M, et al. Acute bacterial prostatitis: two different sub-categories according to a previous manipulation of the lower urinary tract. *World J Urol.* 2006;24(1):45-50. DOI:10.1007/s00345-005-0040-4
69. Касьянова ИА, Квашнина ДВ, Ковалишена ОВ, Сутырина ОМ. Оценка заболеваемости катетер-ассоциированными инфекциями мочевыводящих путей у пациентов урологического отделения многопрофильного стационара. *Молодой ученый.* 2018;27:49-54.
70. Tambyah PA, Halvorson KT, Maki DG. A prospective study of pathogenesis of catheter-associated urinary tract infections. *Mayo Clin Proc.* 1999;74(2):131-6. DOI:10.4065/74.2.131
71. Ong CL, Ulett GC, Mabbett AN, Beatson SA, Webb RI, Monaghan W, et al. Identification of type 3 fimbriae in uropathogenic *Escherichia coli* reveals a role in biofilm formation. *J Bacteriol.* 2008; 190(3):1054-63. DOI:10.1128/JB.01523-07
72. Azevedo AS, Almeida C, Melo LF, Azevedo NF. Impact of polymicrobial biofilms in catheter-associated urinary tract infections. *Crit Rev Microbiol.* 2017;43(4):423-439. DOI: 10.1080/1040841X.2016.1240656
73. Sobel JD. Bacterial vaginosis. *Annu Rev Med.* 2000;51:349-56. DOI: 10.1146/annurev.med.51.1.349
74. Samaranayake YH, Bandara HM, Cheung BP, Yau JY, Yeung SK, Samaranayake LP. Enteric Gram-negative bacilli suppress *Candida* biofilms on Foley urinary catheters. *APMIS.* 2014;122(1):47-58. DOI: 10.1111/apm.12098
75. Giliyeva AG, Shagimardanova EI, Shigapova LH, Pudova DS, Sharipova MR, Mardanov AM. Draft genome sequence and analysis of *Klebsiella oxytoca* strain NK-1 isolated from ureteral stent. *Data Brief.* 2019;24:103853. DOI: 10.1016/j.dib.2019.103853
76. Романова ЮМ, Мулабаев НС, Толордава ЭР, Серёгин АВ, Серёгин ИВ, Алексеева НВ, и др. Микробные сообщества на мочевых камнях. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2015;33(2):20-25.
77. Jaeger CD, Rule AD, Mehta RA, Vaughan LE, Vrtiska TJ, Holmes DR 3rd, et al. Endoscopic and Pathologic Characterization of Papillary Architecture in Struvite Stone Formers. *Urology.* 2016;90:39-44. DOI: 10.1016/j.urology.2015.12.037
78. Etcheverry-Giadrosich B, Torremadé-Barreda J, Pujol-Galarza L, Vigués-Julíà F. Bacterial colonization of penile prosthesis after its withdrawal due to mechanical failure. *Actas Urol Esp.* 2017;41(10):652-655. English, Spanish. DOI: 10.1016/j.acuro.2017.06.002
79. Mulcahy JJ, Köhler TS, Wen L, Wilson SK. Penile implant infection prevention part II: device coatings have changed the game. *Int J Impot Res.* 2020 Aug 7. DOI: 10.1038/s41443-020-0338-1
80. Mishyna M, Marchenko I, Malanchuk S, Makieieva N, Mozgova Y. Ability to form biofilms by pyelonephritis causative agents in children. *Georgian Med News.* 2019;(294):132-136
81. Cattrall JWS, Asin-Prieto E, Freeman J, Trocóniz IF, Kirby A. A pharmacokinetic-pharmacodynamic assessment of oral antibiotics for pyelonephritis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019;38(12):2311-2321. DOI: 10.1007/s10096-019-03679-9
82. Colgan R, Williams M, Johnson JR. Diagnosis and treatment of acute pyelonephritis in women. *Am Fam Physician.* 2011;84(5):519-26.
83. Hofer MD, Gonzalez CM. Current Concepts in Infections Associated with Penile Prostheses and Artificial Sphincters. *Urol Clin North Am.* 2015;42(4):485-92. DOI: 10.1016/j.ucl.2015.05.008
84. Ziegelmann MJ, Linder BJ, Avant RA, Elliott DS. Bacterial Cultures at the Time of Artificial Urinary Sphincter Revision Surgery in Clinically Uninfected Devices: A

- Contemporary Series. J Urol. 2019;201(6):1152-1157. DOI: 10.1097/JU.000000000000102
85. Кузнецова МВ, Гизауллина ЮС, Демаков ВА. Уропатогенные штаммы *E. coli*: биологические свойства и колонизационная активность. Вестник Пермского федерального исследовательского центра. 2019;1:14-22. DOI: 10.7242/2658-705X/2019.1.1
 86. Laverty G, Gorman SP, Gilmore BF. Biofilms and Implant-Associated Infections, in: Barnes L, Cooper IR (eds.), Biomaterials and Medical Device – Associated Infections, Woodhead Publishing, Oxford. 2015;19-45.
 87. Vladkova TG, Staneva AD, Gospodinova DN. Surface engineered biomaterials and ureteral stents inhibiting biofilm formation and encrustation. Surface and Coatings Technology. 2020;404. DOI: 10.1016/j.surfcoat.2020.126424
 88. Chang CT, Chen YT, Hsieh YK, Girsang SP, Wang RS, Chang YC, et al. Dual-functional antibiofilm polymer composite for biodegradable medical devices. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2021;123:111985. DOI: 10.1016/j.msec.2021.111985
 89. Thomas R, Brooks T. Common oligosaccharide moieties inhibit the adherence of typical and atypical respiratory pathogens. J Med Microbiol. 2004;53(Pt 9):833-840. DOI: 10.1099/jmm.0.45643-0
 90. Pigrau C, Escolà-Vergé L. Recurrent urinary tract infections: from pathogenesis to prevention. Med Clin (Barc). 2020;155(4):171-177. English, Spanish. DOI: 10.1016/j.medcli.2020.04.026
 91. Almant M, Moreau V, Kovensky J, Bouckaert J, Gouin SG. Clustering of *Escherichia coli* type-1 fimbrial adhesins by using multimeric heptyl α -D-mannoside probes with a carbohydrate core. Chemistry. 2011;17(36):10029-38. DOI: 10.1002/chem.201100515
 92. Харсеева ГГ, Миронов АЮ, Алиева АА. Подавление бактериальной адгезии: современные подходы, проблемы и перспективы. Успехи современной биологии. 2019;139(5):506-515. DOI: 10.1134/S0042132419050065
 93. Chen CL, Dudek A, Liang YH, Janapatla RP, Lee HY, Hsu L, Kuo HY, Chiu CH. d-mannose-sensitive pilus of *Acinetobacter baumannii* is linked to biofilm formation and adherence onto respiratory tract epithelial cells. J Microbiol Immunol Infect. 2021;S1684-1182(21):00021-9. DOI: 10.1016/j.jmii.2021.01.008
 94. Kolodkin-Gal I, Romero D, Cao S, Clardy J, Kolter R, Losick R. D-amino acids trigger biofilm disassembly. Science. 2010;328(5978):627-629. DOI: 10.1126/science.1188628
 95. Goh SN, Fernandez A, Ang SZ, Lau WY, Lin Ng D, Seong Guan Cheah E. Effects of Different Amino Acids on Biofilm Growth, Swimming Motility and Twitching Motility in *Escherichia Coli* BL21. Journal of Biology and Life Science. 2013;4(2):103-115.
 96. Петрухина МИ, Ющенко ГВ, Политова НГ. Эпидемиологическое значение бактериальных пленок. Журнал Медиаль. 2015;3(17):9-17.
 97. Абатуров АЕ. Полисахарид-разрушающие ферменты как агенты, диспергирующие бактериальные биопленки. Теоретична медицина. 2020;15(4):271-278. DOI:10.22141/2224-0551.15.4.2020.20847
 98. Романова ЮМ, Тутельян АВ, Синицын АП, Писарев ВМ, Алексеева НВ, Филипова НИ, и др. Ферменты из группы карбогидраз разрушают структуру матрикса биопленок грамположительных и грамотрицательных бактерий. Медицинский алфавит. 2019;4(34):40-45. DOI: 10.33667/2078-5631-2019-4-34(409)-40-45
 99. Kaplan JB. Biofilm dispersal: mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses. J Dent Res. 2010; 89(3):205-18. DOI:10.1177/0022034509359403
 100. Кузьменко АВ, Кузьменко ВВ, Гяургиев ТА. Системная энзимотерапия в лечении женщин с хроническим рецидивирующим бактериальным циститом. Урология. 2020;2:35-40. DOI: 10.18565/urology.2020.2.35-40
 101. Масленникова ИЛ, Некрасова ИВ, Орлова ЕГ, Горбунова ОЛ, Ширшев СВ. Взаимодействие нейтрофилов, преобработанных гормонами, с биопленками комменсального и уропатогенного штаммов *E. coli in vitro*. Инфекция и иммунитет. 2020;10(1):64-72. DOI: 10.15789/2220-7619-IVI-1146
 102. Miller-Ensminger T, Garretto A, Brenner J, Thomas-White K, Zambom A, Wolfe AJ, Putonti C. Bacteriophages of the Urinary Microbiome. J Bacteriol. 2018;200(7):e00738-17. DOI: 10.1128/JB.00738-17
 103. Carson L, Gorman SP, Gilmore BF. The use of lytic bacteriophages in the prevention and eradication of biofilms of *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli*. FEMS Immunol Med Microbiol. 2010;59(3):447-55. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2010.00696.x
 104. Sybesma W, Zbinden R, Chanishvili N, Kutateladze M, Chkhotua A, Ujmajuridze A, et al. Bacteriophages as Potential Treatment for Urinary Tract Infections. Front Microbiol. 2016;7:465. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00465
 105. Valério N, Oliveira C, Jesus V, Branco T, Pereira C, Moreirinha C, Almeida A. Effects of single and combined use of bacteriophages and antibiotics to inactivate *Escherichia coli*. Virus Res. 2017;240:8-17. DOI: 10.1016/j.virusres.2017.07.015
 106. Польшага ОА, Дабижева АН, Ворошилова НН. Влияние композиции литических бактериофагов *P. aeruginosa* на формирование и разрушение бактериальных биопленок. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2018;17(4):20-25. DOI: 10.31631/2073-3046-2018-17-4-20-25
 107. Guiton PS, Hung CS, Kline KA, Roth R, Kau AL, Hayes E, et al. Contribution of autolysin and Sortase a during *Enterococcus faecalis* DNA-dependent biofilm development. Infect Immun. 2009;77(9):3626-38. DOI:10.1128/IAI.00219-09
 108. Назаров ПА. Альтернативы антибиотикам: литические ферменты бактериофагов и фаговая терапия. Вестник Российского государственного медицинского университета. 2018;1:5-15. DOI: 10.24075/vrgmu.2018.002
 109. Snopkova K, Dufkova K, Klimesova P, Vanerkova M, Ruzicka F, Hola V. Prevalence of bacteriocins and their co-association with virulence factors within *Pseudomonas aeruginosa* catheter isolates. Int J Med Microbiol. 2020;310(8):151454. DOI: 10.1016/j.ijmm.2020.151454
 110. Elbargisy RM. Optimization of nutritional and environmental conditions for pyocyanin production by urine isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. Saudi J Biol Sci. 2021;28(1):993-1000. DOI: 10.1016/j.sjbs.2020.11.031
 111. Roy SM, Riley MA. Evaluation of the potential of colicins to prevent extraluminal contamination of urinary catheters by *Escherichia coli*. Int J Antimicrob Agents. 2019;54(5):619-625. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2019.07.004
 112. Soto SM, Smithson A, Horcajada JP, Martinez JA, Mensa JP, Vila J. Implication of biofilm formation in the persistence of urinary tract infection caused by uropathogenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Infect. 2006;12(10):1034-6. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2006.01543.x
 113. Carmen JC, Roeder BL, Nelson JL, Ogilvie RL, Robison RA, Schaalje GB, Pitt WG. Treatment of biofilm infections on implants with low-frequency ultrasound and antibiotics. Am J Infect Control. 2005;33(2):78-82. DOI: 10.1016/j.ajic.2004.08.002
 114. Покос ОВ. Вивчення дії препаратів з наночастинками на здатність до утворення біоплівки штаммами *P. aeruginosa*. Профілактична медицина. 2012;1(17):37-42. (In Ukrainian).
 115. Armijo LM, Wawrzyniec SJ, Kopciuch M, Brandt YI, Rivera AC, Withers NJ, et al. Antibacterial activity of iron oxide, iron nitride, and tobramycin conjugated nanoparticles against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. J Nanobiotechnology. 2020;18(1):35. DOI:10.1186/s12951-020-0588-6
 116. Lungu M, Gavrilu S, Enescu E, Ion I, Brătulescu A, Mihăescu G, Măruțescu L, Carmen M. Silver-titanium dioxide nanocomposites as effective antimicrobial and antibiofilm agents. J Nanopart Res. 2014;16(1):2203-2218. DOI: 10.1007/s11051-013-2203-3
 117. Siddique MH, Aslam B, Imran M, Ashraf A, Nadeem H, Hayat S, et al. Effect of Silver Nanoparticles on Biofilm Formation and EPS Production of Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae*. Biomed Res Int. 2020;2020:6398165. DOI: 10.1155/2020/6398165
 118. Радциг МА. Взаимодействие клеток бактерий с соединениями серебра и золота: влияние на рост, образование биопленок, механизмы действия, биогенез наночастиц. Дисс. ... канд. биол. наук. М., 2013.

119. Кабанова АА, Походенько-Чудакова ИО, Плотников ФВ. Способы воздействия на микробные биопленки. Современное состояние вопроса. Вісник проблем біології медицини. 2015;4(2):20-24. (In Ukrainian).
120. Kim EM, Jeong HJ. Liposomes: Biomedical Applications. Chonnam Med J. 2021; 57(1):27-35. DOI: 10.4068/cmj.2021.57.1.27
121. Rukavina Z, Vanič Ž. Current Trends in Development of Liposomes for Targeting Bacterial Biofilms. Pharmaceutics. 2016;8(2):18. DOI: 10.3390/pharmaceutics8020018
122. Tamilvanan S, Venkateshan N, Ludwig A. The potential of lipid- and polymer-based drug delivery carriers for eradicating biofilm consortia on device-related nosocomial infections. J Control Release. 2008;128(1):2-22. DOI: 10.1016/j.jconrel.2008.01.006
123. Lau WK, Dharmasena D, Horsley H, Jafari NV, Malone-Lee J, Stride E, et al. Novel antibiotic-loaded particles conferring eradication of deep tissue bacterial reservoirs for the treatment of chronic urinary tract infection. J Control Release. 2020;328:490-502. DOI: 10.1016/j.jconrel.2020.08.048
124. Захарова ИН, Османов ИМ, Климов ЛЯ, Касьянова АН, Курьянинова ВА, Лупан ИН. Роль антимикробных пептидов в защите от инфекций мочевых путей. Медицинский совет. 2019;2:143-150. DOI: 10.21518/2079-701X-2019-2-143-150
125. Плакунов ВК, Журина МВ, Ганнесен АВ, Мартянов СВ, Николаев ЮА. Антибиопленочные агенты: неоднозначность терминологии и стратегии поиска. Микробиология. 2019;6(88):705-709. DOI: 10.1134/S0026365619060144
13. Cernohorská L, Votava M. Biofilmy a jejich význam v lékařské mikrobiologii [Biofilms and their significance in medical microbiology]. Epidemiol Mikrobiol Imunol. 2002;51(4):161-4. (In Czech).
14. Tenke P, Köves B, Johansen TE. An update on prevention and treatment of catheter-associated urinary tract infections. Curr Opin Infect Dis. 2014;27(1):102-7. DOI: 10.1097/QCO.0000000000000031
15. Hall CW, Mah TF. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. FEMS Microbiol Rev. 2017;41(3):276-301. DOI: 10.1093/femsre/fux010
16. Ryazantsev VE, Vlasov VV, Rumyantsev FV, Kiushkin VO. Dynamics of antibiotic resistance in urological patients. Effective Pharmacotherapy. 2020;16(3):8-13. DOI: 10.33978/2307-3586-2020-16-3-8-13 (In Russian).
17. Nozhevnikova AN, Botchkova EA, Plakunov VK. Multi-species biofilms in ecology, medicine, and biotechnology. Microbiology (Mikrobiologiya). 2015;84(6):731-750. DOI: 10.1134/S0026261715060107
18. Nikolaev YuA, Pankratov TA, Gannesen AV, Demkina EV, El'-Registan GI, Kolganova TV, Suzina NE. Formation and properties of persister cells of *Staphylococcus capitis* and *Staphylococcus epidermidis*, bacteria inhabiting human skin. Microbiology (Mikrobiologiya). 2020;89(4):425-434. DOI: 10.1134/S0026261720040104
19. Lewis K. Persister cells and the riddle of biofilm survival. Biochemistry (Moscow). 2005;70(2):267-274.
20. El Salabi A, Walsh TR, Chouchani C. Extended spectrum β -lactamases, carbapenemases and mobile genetic elements responsible for antibiotics resistance in Gram-negative bacteria. Crit Rev Microbiol. 2013;39(2):113-122. DOI: 10.3109/1040841X.2012.691870
21. Ory J, Bricheux G, Robin F, Togola A, Forestier C, Traore O. Biofilms in hospital effluents as a potential crossroads for carbapenemase-encoding strains. Sci Total Environ. 2019;657:7-15. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.11.427
22. Fursova NK, Pryamchuk SD, Abaev IV, Kovalev YuN, Shishkova NA, Pecherskikh EI, et al. Genetic environments of *blaCTX-M* genes located on conjugative plasmids of *Enterobacteriaceae* nosocomial isolates collected in Russia within 2003–2007. Antibiotics and Chemotherapy. 2010;55(11-12):3-10. (In Russian).
23. Segura WD, Ramos HP, de Faria Blanc Amorim RE, da Silva Ribeiro AC, Pereira EC, Cayô R, Gales AC, Piantino Ferreira AJ, da Rocha Minarini LA. *In vitro* and *in vivo* persistence of IncN plasmids carrying *qnr* genes in uropathogenic *Escherichia coli* isolates. J Glob Antimicrob Resist. 2020;22:806-810. DOI: 10.1016/j.jgar.2020.07.006
24. Zhao F, Yang H, Bi D, Khaleli A, Qiao M. A systematic review and meta-analysis of antibiotic resistance patterns, and the correlation between biofilm formation with virulence factors in uropathogenic *E. coli* isolated from urinary tract infections. Microb Pathog. 2020;144:104196. DOI: 10.1016/j.micpath.2020.104196
25. Yadav MK, Song J-J, Singh BP, Vidal JE. Microbial biofilms and human disease: A concise review. In: Yadav MK, Singh BP (eds). New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering; Current Research and Future Trends in Microbial Biofilms. Elsevier; Amsterdam, The Netherlands: 2020; pp. 1-13.
26. Colquhoun JM, Rather PN. Insights Into Mechanisms of Biofilm Formation in *Acinetobacter baumannii* and Implications for Uropathogenesis. Front Cell Infect Microbiol. 2020;10:253. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00253
27. Karigoudar RM, Karigoudar MH, Wavare SM, Mangalgi SS. Detection of biofilm among uropathogenic *Escherichia coli* and its correlation with antibiotic resistance pattern. J Lab Physicians. 2019;11(1):17-22. DOI: 10.4103/JLP.JLP_98_18
28. Whelan S, O'Grady MC, Corcoran D, Finn K, Lucey B. Uropathogenic *Escherichia coli* Biofilm-Forming Capabilities are not Predictable from Clinical Details or from Colonial Morphology. Diseases. 2020;8(2):11. DOI: 10.3390/diseases8020011
29. Singh S, Singh SK, Chowdhury I, Singh R. Understanding the Mechanism of Bacterial Biofilms Resistance to Antimicrobial Agents. Open Microbiol J. 2017;11:53-62. DOI: 10.2174/1874285801711010053

References

1. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. Annu Rev Microbiol. 1995;49:711-745. DOI: 10.1146/annurev.mi.49.100195.003431
2. Chole RA, Faddis BT. Anatomical evidence of microbial biofilms in tonsillar tissues: a possible mechanism to explain chronicity. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2003;129(6):634-6. DOI: 10.1001/archotol.129.6.634
3. Struthers JK. The use of a continuous culture system to study the antimicrobial susceptibility of bacteria in biofilm. Methods Mol Med. 2001;48:215-25. DOI: 10.1385/1-59259-077-2:215
4. Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. Nat Rev Microbiol. 2004;2(2):95-108. DOI: 10.1038/nrmicro821
5. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clin Microbiol Rev. 2002;15(2):167-93. DOI: 10.1128/cmr.15.2.167-193.2002
6. Jacobsen SM, Stickler DJ, Mobley HL, Shirtliff ME. Complicated catheter-associated urinary tract infections due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. Clin Microbiol Rev. 2008;21(1):26-59. DOI: 10.1128/CMR.00019-07
7. Behzadi P, Urbán E, Gajdács M. Association between Biofilm-Production and Antibiotic Resistance in Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC): An *In Vitro* Study. Diseases. 2020;8(2):17. DOI: 10.3390/diseases8020017
8. Urology. Russian Clinical Guidelines. Edited by Alyaev YuG, Glybochko PV, Pushkar DYu. Moscow, 2017, 544 p. (In Russian).
9. Choong S, Whitfield H. Biofilms and their role in infections in urology. BJU Int. 2000;86(8):935-41. DOI: 10.1046/j.1464-410x.2000.00949.x
10. Sutherland IW. The biofilm matrix – an immobilized but dynamic microbial environment. Trends Microbiol. 2001;9(5):222-7. DOI: 10.1016/s0966-842x(01)02012-1
11. Rumbaugh KP, Griswold JA, Hamood AN. The role of quorum sensing in the *in vivo* virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. Microbes Infect. 2000;2(14):1721-31. DOI: 10.1016/s1286-4579(00)01327-7
12. Abraham WR. Controlling biofilms of gram-positive pathogenic bacteria. Curr Med Chem. 2006;13(13):1509-24. DOI: 10.2174/09298670677442039

30. Neupane S, Pant ND, Khatiwada S, Chaudhary R, Banjara MR. Correlation between biofilm formation and resistance toward different commonly used antibiotics along with extended spectrum beta lactamase production in uropathogenic *Escherichia coli* isolated from the patients suspected of urinary tract infections visiting Shree Birendra Hospital, Chhauni, Kathmandu, Nepal. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2016;5:5. DOI: 10.1186/s13756-016-0104-9
31. Perepanova TS. The value of infections with the formation of biofilms in urology. *Effective Pharmacotherapy*. 2013;37:18-27. (In Russian).
32. Lundeen C, Scotland KB. Urologic Devices: Infection and Encrustation. In: Lange D, Scotland K (eds). *The Role of Bacteria in Urology*. Springer, Cham. 2019. DOI: 10.1007/978-3-030-17542-9_15
33. Barros AA, Oliveira C, Lima E, Duarte ARC, Healy KE, Reis RL. Ureteral Stents Technology: Biodegradable and Drug-Eluting Perspective. *Reference Module in Materials Science and Materials Engineering*. 2017;7:793-812.
34. Stoica P, Chifiriuc MC, Rapa M, Lazăr V. Overview of biofilm-related problems in medical devices, Biofilms and Implantable Medical Devices. 2017;3-23. DOI: 10.1016/B978-0-08-100382-4.00001-0
35. Balushkina AA, Kan NE, Tyutyunnik VL. Therapy of urinary tract infections in gynecological practice. *Medical Council (Meditsinskiy sovet)*. 2019;7:87-92. DOI: 10.21518/2079-701X-2019-7-87-92 (In Russian).
36. Malafeeva EV, Gulneva MYu. Formation of biofilms by opportunistic microorganisms. *Science Review*. 2020;4:65-69. (In Russian).
37. Ibishev KhS, Krakhotkin DA, Vasiliev AA, Krayniy PA. Viral etiology of recurrent urinary tract infections. *Urology Herald*. 2017;5(1):26-31. DOI: 10.21886/2306-6424-2017-5-1-26-31 (In Russian).
38. Krakhotkin DV, Ivanov SN, Naboka YuL, Kogan MI, Gudima IA, Ilyash AV, et al. Viral pathogens in urological diseases. *Medical Herald of the South of Russia (Meditsinskiy vestnik Yuga Rossii)*. 2018;9(4):14-21. DOI: 10.21886/2219-8075-2018-9-4-14-21 (In Russian).
39. Vysakh A, Midhun SJ, Jayesh K, Jyothis M, Latha MS. Studies on biofilm formation and virulence factors associated with uropathogenic *Escherichia coli* isolated from patient with acute pyelonephritis. *Pathophysiology*. 2018;25(4):381-387. DOI: 10.1016/j.pathophys.2018.07.004
40. Lagun LV, Atanasova YuV, Tapalsky DV. Formation of microbial biofilms in causative agents of acute and chronic pyelonephritis. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2013;3:18-23. (In Russian).
41. Mohammed A, Khan A, Shaikh T, Shergill IS, Junaid I. The artificial urinary sphincter. *Expert Rev Med Devices*. 2007;4(4):567-75. DOI: 10.1586/17434440.4.4.567
42. Bryan DE, Mulcahy JJ, Simmons GR. Salvage procedure for infected noneroded artificial urinary sphincters. *J Urol*. 2002;168(6):2464-6. DOI: 10.1097/01.ju.0000036436.69699.19
43. Soto G, Sara M. Importance of Biofilms in Urinary Tract Infections: New Therapeutic Approaches *Advances in Biology*. 2014; 1-13. DOI: 10.1155/2014/543974
44. Delcaru C, Alexandru I, Podgoreanu P, Grosu M, Stavropoulos E, Chifiriuc MC, Lazar V. Microbial Biofilms in Urinary Tract Infections and Prostatitis: Etiology, Pathogenicity, and Combating strategies. *Pathogens*. 2016;5(4):65. DOI: 10.3390/pathogens5040065
45. Vranová V. The importance of phytopharmaceuticals in treating chronic prostatitis, *Urologie pro praxi*, 2019;20(2):58-61. DOI: 10.36290/uro.2019.050
46. Morris NS, Stickler DJ, McLean RJ. The development of bacterial biofilms on indwelling urethral catheters. *World J Urol*. 1999;17(6):345-50. DOI: 10.1007/s003450050159
47. Chew BH, Seitz C. Impact of ureteral stenting in ureteroscopy. *Curr Opin Urol*. 2016;26(1):76-80. DOI: 10.1097/MOU.0000000000000234
48. Tsukanov AYu, Akhmetov DS, Blesman AI, Rogachev EA. The impact of ureteral stent surface on encrustation and biofilm formation. *Urologija*. 2018;(2):40-45. DOI: 10.18565/urology.2018.2.40-45 (In Russian).
49. Tsukanov AYu, Akhmetov DS, Novikov AA, Negrov DA, Putintseva AR. Prevention of encrustation and biofilm formation on the ureteral stent surface. Part 1. *Experimental and Clinical Urology*. 2020;3:176-181. DOI: 10.29188/2222-8543-2020-12-3-176-181 (In Russian).
50. Amosova OYe, Shanina SN, Katkova VI. Statistical analysis of amino acid composition of uroliths in residents of the Komi Republic. *Komi Science Centre of UrB RAS*. 2019;4(40):37-44. DOI: 10.19110/1994-5655-2019-4-37-44 (In Russian).
51. Egamberdiev DK. Rol infektsii mochevykh putei v geneze kamnei pochek. *Diss. Moscow*, 2013, 120 p. (In Russian).
52. Eisner BH, Deshmukh SM, Lange D. Struvite Stones: Urinary Stones: Medical and Surgical Management. 2014;48-56. DOI: 10.1002/9781118405390.ch5
53. Marien T, Miller NL. Treatment of the Infected Stone. *Urol Clin North Am*. 2015;42(4):459-472. DOI:10.1016/j.ucl.2015.05.009
54. Zampini A, Nguyen AH, Rose E, Monga M, Miller AW. Defining Dysbiosis in Patients with Urolithiasis. *Sci Rep*. 2019;9(1):5425. DOI: 10.1038/s41598-019-41977-6
55. Lo E, Nicolle LE, Coffin SE, Gould C, Maragakis LL, Meddings J, et al. Strategies to prevent catheter-associated urinary tract infections in acute care hospitals: 2014 update. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2014;35 Suppl 2:S32-47.
56. Holá V, Ruzicka F, Horka M. Microbial diversity in biofilm infections of the urinary tract with the use of sonication techniques. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2010;59(3):525-8. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2010.00703.x
57. Lisovskaya SA, Khabipova NN, Valeeva LR, Sharipova MR, Khaldeeva EV, Khazeeva KK. Evaluation of microorganism species found in medical practice and forming biofilms on medical catheters. *Journal MedAI*. 2018;2(22):12-15. (In Russian).
58. Storchak AV, Grishchenko OV. Problematic issues of restoration of vaginal biocenosis. *Okhrana materinstva i detstva*. 2017;2(30):67-75. (In Russian).
59. Costerton JW. *The microbiology of the healthy human body: The Biofilm Primer.*, Springer. New York. 2007;108-127.
60. Bradshaw CS, Tabrizi SN, Fairley CK, Morton AN, Rudland E, Garland SM. The association of *Atopobium vaginae* and *Gardnerella vaginalis* with bacterial vaginosis and recurrence after oral metronidazole therapy. *J Infect Dis*. 2006;194(6):828-836. DOI: 10.1086/506621
61. Swidsinski A, Mendling W, Loening-Baucke V, Swidsinski S, Dörffel Y, Scholze J, Lochs H, Verstraelen H. An adherent *Gardnerella vaginalis* biofilm persists on the vaginal epithelium after standard therapy with oral metronidazole. *Am J Obstet Gynecol*. 2008;198(1):97.e1-6. DOI: 10.1016/j.ajog.2007.06.039
62. Gusak YuK, Rischuk SV, Tarasov VN, Gusak VN. Infectious diseases of the vagina. Searching for an optimal solution in their therapy, protection or attack? *Journal of New Medical Technologies*. 2019;13(4):22-40. DOI: 10.24411/2075-4094-2019-16485 (In Russian).
63. Tenke P, Köves B, Nagy K, Hultgren SJ, Mendling W, Wullt B, et al. Update on biofilm infections in the urinary tract. *World J Urol*. 2012;30(1):51-7. DOI: 10.1007/s00345-011-0689-9
64. Mulcahy JJ, Köhler TS, Wen L, Wilson SK. Penile implant infection prevention part II: device coatings have changed the game. *Int J Impot Res*. 2020. DOI:10.1038/s41443-020-0338-1
65. Silverstein AD, Henry GD, Evans B, Pasmore M, Simmons CJ, Donatucci CF. Biofilm formation on clinically noninfected penile prostheses. *J Urol*. 2006;176(3):1008-11. DOI: 10.1016/j.juro.2006.04.034
66. Kavoussi NL, Siegel JA, Viers BR, Pagliara TJ, Hofer MD, Cordon BH, et al. Preoperative Urine Culture Results Correlate Poorly With Bacteriology of Urologic Prosthetic Device Infections. *J Sex Med*. 2017;14(1):163-168. DOI: 10.1016/j.jsxm.2016.10.017
67. Brede CM, Shoskes DA. The etiology and management of acute prostatitis. *Nat Rev Urol*. 2011;8(4):207-12. DOI:10.1038/nrurol.2011.22

68. Millán-Rodríguez F, Palou J, Bujons-Tur A, Musquera-Felip M, Sevilla-Cecilia C, Serrallach-Orejas M, et al. Acute bacterial prostatitis: two different sub-categories according to a previous manipulation of the lower urinary tract. *World J Urol.* 2006;24(1):45-50. DOI: 10.1007/s00345-005-0040-4
69. Kas'yanova IA, Kvashnina DV, Kovalishena OV, Sutyryna OM. Otsenka zabolevaemosti kateter-assotsirovannyimi infektsiyami mochevyvodyashchikh putei u patsientov urologicheskogo otdeleniya mnogoprofil'nogo statsionara. *Molodoi uchenyi.* 2018;27:49-54. (In Russian).
70. Tambyah PA, Halvorson KT, Maki DG. A prospective study of pathogenesis of catheter-associated urinary tract infections. *Mayo Clin Proc.* 1999;74(2):131-6. DOI: 10.4065/74.2.131
71. Ong CL, Ulett GC, Mabbett AN, Beatson SA, Webb RI, Monaghan W, et al. Identification of type 3 fimbriae in uropathogenic *Escherichia coli* reveals a role in biofilm formation. *J Bacteriol.* 2008;190(3):1054-63. DOI: 10.1128/JB.01523-07
72. Azevedo AS, Almeida C, Melo LF, Azevedo NF. Impact of polymicrobial biofilms in catheter-associated urinary tract infections. *Crit Rev Microbiol.* 2017;43(4):423-439. DOI: 10.1080/1040841X.2016.1240656
73. Sobel JD. Bacterial vaginosis. *Annu Rev Med.* 2000;51:349-56. DOI: 10.1146/annurev.med.51.1.349
74. Samaranyake YH, Bandara HM, Cheung BP, Yau JY, Yeung SK, Samaranyake LP. Enteric Gram-negative bacilli suppress *Candida* biofilms on Foley urinary catheters. *APMIS.* 2014;122(1):47-58. DOI: 10.1111/apm.12098
75. Giliyeva AG, Shagimardanova EI, Shigapova LH, Pudova DS, Sharipova MR, Mardanov AM. Draft genome sequence and analysis of *Klebsiella oxytoca* strain NK-1 isolated from ureteral stent. *Data Brief.* 2019;24:103853. DOI: 10.1016/j.dib.2019.103853
76. Romanova YuM, Tolordava ER, Alexeeva NV, Stepanova TV, Levina GA, Barkhatova OI, et al. Microbial communities on kidney stones. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology.* 2015;30(2):78-84.
77. Jaeger CD, Rule AD, Mehta RA, Vaughan LE, Vrtiska TJ, Holmes DR 3rd, et al. Endoscopic and Pathologic Characterization of Papillary Architecture in Struvite Stone Formers. *Urology.* 2016;90:39-44. DOI: 10.1016/j.urology.2015.12.037
78. Etcheverry-Giadrosich B, Torremadé-Barreda J, Pujol-Galarza L, Vigués-Julà F. Bacterial colonization of penile prosthesis after its withdrawal due to mechanical failure. *Actas Urol Esp.* 2017;41(10):652-655. English, Spanish. DOI: 10.1016/j.acuro.2017.06.002
79. Mulcahy JJ, Köhler TS, Wen L, Wilson SK. Penile implant infection prevention part II: device coatings have changed the game. *Int J Impot Res.* 2020 Aug 7. DOI: 10.1038/s41443-020-0338-1
80. Mishyna M, Marchenko I, Malanchuk S, Makieieva N, Mozgova Y. Ability to form biofilms by pyelonephritis causative agents in children. *Georgian Med News.* 2019;(294):132-136.
81. Cattrall JWS, Asín-Prieto E, Freeman J, Trocóniz IF, Kirby A. A pharmacokinetic-pharmacodynamic assessment of oral antibiotics for pyelonephritis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019;38(12):2311-2321. DOI: 10.1007/s10096-019-03679-9
82. Colgan R, Williams M, Johnson JR. Diagnosis and treatment of acute pyelonephritis in women. *Am Fam Physician.* 2011;84(5):519-26.
83. Hofer MD, Gonzalez CM. Current Concepts in Infections Associated with Penile Prostheses and Artificial Sphincters. *Urol Clin North Am.* 2015;42(4):485-92. DOI: 10.1016/j.ucl.2015.05.008
84. Ziegelmann MJ, Linder BJ, Avant RA, Elliott DS. Bacterial Cultures at the Time of Artificial Urinary Sphincter Revision Surgery in Clinically Uninfected Devices: A Contemporary Series. *J Urol.* 2019;201(6):1152-1157. DOI: 10.1097/JU.000000000000102
85. Kuznetsova MV, Gizatullina YuS, Demakov VA. Uropathogenic *Escherichia coli* strains: biological properties and colonization activity. *Perm Federal Research Centre Journal.* 2019;1:14-22. DOI: 10.7242/2658-705X/2019.1.1
86. Lavery G, Gorman SP, Gilmore BF. Biofilms and Implant-Associated Infections, in: Barnes L, Cooper IR (eds.), *Biomaterials and Medical Device – Associated Infections*, Woodhead Publishing, Oxford. 2015;19-45.
87. Vladkova TG, Staneva AD, Gospodinova DN. Surface engineered biomaterials and ureteral stents inhibiting biofilm formation and encrustation. *Surface and Coatings Technology.* 2020;404. DOI: 10.1016/j.surfcoat.2020.126424
88. Chang CT, Chen YT, Hsieh YK, Girsang SP, Wang RS, Chang YC, et al. Dual-functional antibiofilm polymer composite for biodegradable medical devices. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2021;123:111985. DOI: 10.1016/j.msec.2021.111985
89. Thomas R, Brooks T. Common oligosaccharide moieties inhibit the adherence of typical and atypical respiratory pathogens. *J Med Microbiol.* 2004; 53(Pt 9):833-840. DOI: 10.1099/jmm.0.45643-0
90. Pigrau C, Escolà-Vergé L. Recurrent urinary tract infections: from pathogenesis to prevention. *Med Clin (Barc).* 2020;155(4):171-177. English, Spanish. DOI: 10.1016/j.medcli.2020.04.026
91. Almant M, Moreau V, Kovensky J, Bouckaert J, Gouin SG. Clustering of *Escherichia coli* type-1 fimbrial adhesins by using multimeric heptyl α -D-mannoside probes with a carbohydrate core. *Chemistry.* 2011;17(36):10029-38. DOI: 10.1002/chem.201100515
92. Kharseeva GG, Mironov AYu, Alieva AA. Suppression of bacterial adhesion: modern approaches, problems and prospects. *Biology Bulletin Reviews.* 2019;139(5):506-515. DOI: 10.1134/S0042132419050065
93. Chen CL, Dudek A, Liang YH, Janapatla RP, Lee HY, Hsu L, Kuo HY, Chiu CH. d-mannose-sensitive pilus of *Acinetobacter baumannii* is linked to biofilm formation and adherence onto respiratory tract epithelial cells. *J Microbiol Immunol Infect.* 2021;S1684-1182(21):00021-9. DOI: 10.1016/j.jmii.2021.01.008
94. Kolodkin-Gal I, Romero D, Cao S, Clardy J, Kolter R, Losick R. D-amino acids trigger biofilm disassembly. *Science.* 2010;328(5978):627-629. DOI: 10.1126/science.1188628
95. Goh SN, Fernandez A, Ang SZ, Lau WY, Lin Ng D, Seong Guan Cheah E. Effects of Different Amino Acids on Biofilm Growth, Swimming Motility and Twitching Motility in *Escherichia Coli* BL21. *Journal of Biology and Life Science.* 2013;4(2):103-115.
96. Petrukhina MI, Yushchenko GV, Politova NG. Epidemiological value of bacterial slimes. *Journal MediaI.* 2015;3(17):9-17. (In Russian).
97. Abaturon AE. Polysaccharide-degrading enzymes as agents dispersing bacterial biofilms. *Child's Health.* 2020;15(4):271-278. DOI: 10.22141/2224-0551.15.4.2020.20847 (In Russian).
98. Romanova YuM, Tutelyan AV, Sinitsyn AP, Pisarev VM, Alekseeva NV, Filipova NI, et al. Enzymes from carbohydrase group destroy biofilm matrix of gram-positive and gram-negative bacteria. *Medical Alphabet.* 2019;4(34):40-45. DOI: 10.33667/2078-5631-2019-4-34(409)-40-45
99. Kaplan JB. Biofilm dispersal: mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses. *J Dent Res.* 2010;89(3):205-18. DOI: 10.1177/0022034509359403
100. Kuz'menko AV, Kuz'menko VV, Gyaurgiev TA. Systemic enzyme therapy for treatment of women with chronic recurrent bacterial cystitis. *Urologia.* 2020;2:35-40. DOI: 10.18565/urology.2020.2.35-40 (In Russian).
101. Maslennikova IL, Nekrasova IV, Orlova EG, Gorbunova OL, Shirshv SV. *In vitro* interaction of hormone-conditioned neutrophils with commensal and uropathogenic *Escherichia coli* biofilms. *Infektsiya i immunitet (Russian Journal of Infection and Immunity).* 2020;10(1):64-72. DOI: 10.15789/2220-7619-IVI-1146 (In Russian).
102. Miller-Ensminger T, Garretto A, Brenner J, Thomas-White K, Zambom A, Wolfe AJ, Putonti C. Bacteriophages of the Urinary Microbiome. *J Bacteriol.* 2018;200(7):e00738-17. DOI: 10.1128/JB.00738-17
103. Carson L, Gorman SP, Gilmore BF. The use of lytic bacteriophages in the prevention and eradication of biofilms of *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli*.

- FEMS Immunol Med Microbiol. 2010;59(3):447-55. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2010.00696.x
104. Sybesma W, Zbinden R, Chanishvili N, Kutateladze M, Chkhotua A, Ujmajuridze A, et al. Bacteriophages as Potential Treatment for Urinary Tract Infections. *Front Microbiol.* 2016;7:465. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00465
105. Valério N, Oliveira C, Jesus V, Branco T, Pereira C, Moreirinha C, Almeida A. Effects of single and combined use of bacteriophages and antibiotics to inactivate *Escherichia coli*. *Virus Res.* 2017;240:8-17. DOI: 10.1016/j.virusres.2017.07.015
106. Polygach OA, Dabizheva AN, Vooshilova NN. Effect of the composition of lytic bacteriophages of *P. aeruginosa* formation and destruction of bacterial biofilms. *Epidemiology and Vaccinal Prevention.* 2018;17(4):20-25. DOI: 10.31631/2073-3046-2018-17-4-20-25 (In Russian).
107. Guiton PS, Hung CS, Kline KA, Roth R, Kau AL, Hayes E, et al. Contribution of autolysin and Sortase a during *Enterococcus faecalis* DNA-dependent biofilm development. *Infect Immun.* 2009;77(9):3626-38. DOI:10.1128/IAI.00219-09
108. Nazarov PA. Alternatives to antibiotics: phage lytic enzymes and phage therapy. *Bulletin of Russian State Medical University.* 2018;1:5-15. DOI: 10.24075/vrgmu.2018.002 (In Russian).
109. Snopkova K, Dufkova K, Klimesova P, Vanerkova M, Ruzicka F, Hola V. Prevalence of bacteriocins and their co-association with virulence factors within *Pseudomonas aeruginosa* catheter isolates. *Int J Med Microbiol.* 2020;310(8):151454. DOI: 10.1016/j.ijmm.2020.151454
110. Elbargisy RM. Optimization of nutritional and environmental conditions for pyocyanin production by urine isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Saudi J Biol Sci.* 2021;28(1):993-1000. DOI: 10.1016/j.sjbs.2020.11.031
111. Roy SM, Riley MA. Evaluation of the potential of colicins to prevent extraluminal contamination of urinary catheters by *Escherichia coli*. *Int J Antimicrob Agents.* 2019;54(5):619-625. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2019.07.004
112. Soto SM, Smithson A, Horcajada JP, Martinez JA, Mensa JP, Vila J. Implication of biofilm formation in the persistence of urinary tract infection caused by uropathogenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Infect.* 2006;12(10):1034-6. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2006.01543.x
113. Carmen JC, Roeder BL, Nelson JL, Ogilvie RL, Robison RA, Schaalje GB, Pitt WG. Treatment of biofilm infections on implants with low-frequency ultrasound and antibiotics. *Am J Infect Control.* 2005;33(2):78-82. DOI: 10.1016/j.ajic.2004.08.002
114. Pokas OV. The studying of the effect of the drugs with nanoparticles upon the capacity to form biofilms by strains *P. aeruginosa*. *Profilactic medicine.* 2012;1(17):37-42. (In Ukrainian).
115. Armijo LM, Wawrzyniec SJ, Kopciuch M, Brandt YI, Rivera AC, Withers NJ, et al. Antibacterial activity of iron oxide, iron nitride, and tobramycin conjugated nanoparticles against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *J Nanobiotechnology.* 2020;18(1):35. DOI:10.1186/s12951-020-0588-6
116. Lungu M, Gavrilu S, Enescu E, Ion I, Brătulescu A, Mihăescu G, Măruțescu L, Carmen M. Silver-titanium dioxide nanocomposites as effective antimicrobial and antibiofilm agents. *J Nanopart Res.* 2014;16(1):2203-2218. DOI: 10.1007/s11051-013-2203-3
117. Siddique MH, Aslam B, Imran M, Ashraf A, Nadeem H, Hayat S, et al. Effect of Silver Nanoparticles on Biofilm Formation and EPS Production of Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Biomed Res Int.* 2020;2020:6398165. DOI: 10.1155/2020/6398165
118. Radsig MA. Vzaimodeistvie kletok bakterii s soedineniyami serebra i zolota: vliyaniye na rost, obrazovaniye bioplenok, mekhanizmy deistviya, biogenez nanochastits. Diss. Moscow, 2013. (In Russian).
119. Kabanova AA, Pokhoden'ko-Chudakova IO, Plotnikov FV. Cposoby vozdeistviya na mikrobnyye bioplenki. *Covremennoye sostoyaniye voprosa. Bulletin of problems biology and medicine.* 2015;4(2):20-24. (In Ukrainian).
120. Kim EM, Jeong HJ. Liposomes: Biomedical Applications. *Chonnam Med J.* 2021; 57(1):27-35. DOI: 10.4068/cmj.2021.57.1.27
121. Rukavina Z, Vanić Ž. Current Trends in Development of Liposomes for Targeting Bacterial Biofilms. *Pharmaceutics.* 2016;8(2):18. DOI: 10.3390/pharmaceutics8020018
122. Tamilvanan S, Venkateshan N, Ludwig A. The potential of lipid- and polymer-based drug delivery carriers for eradicating biofilm consortia on device-related nosocomial infections. *J Control Release.* 2008;128(1):2-22. DOI: 10.1016/j.jconrel.2008.01.006
123. Lau WK, Dharmasena D, Horsley H, Jafari NV, Malone-Lee J, Stride E, et al. Novel antibiotic-loaded particles conferring eradication of deep tissue bacterial reservoirs for the treatment of chronic urinary tract infection. *J Control Release.* 2020;328:490-502. DOI: 10.1016/j.jconrel.2020.08.048
124. Zakharaeva IN, Osmanov IM, Klimov LYa, Kasyanova AN, Kuryaninova VA, Lupan IN. The role of antimicrobial peptides in defending the urinary tract against infections. *Medical Council (Meditsinskiy sovet).* 2019;2:143-150. DOI: 10.21518/2079-701X-2019-2-143-150 (In Russian).
125. Plakunov VK, Zhurina MV, Gannesen AV, Mart'yanov SV, Nikolaev YuA. Antibiofilm agents: terminological ambiguity and strategy for search. *Microbiology (Mikrobiologiya).* 2019;88(6):747-750. (In Russian).

Информация об авторах:

Ермоленко Зинаида Михайловна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии и биотехнологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
 Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24 ФБУН ГНЦ ПМБ
 Телефон: (4967) 36-0079
 E-mail: z.yermolenko@inbox.ru

Слукин Павел Владимирович, научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
 Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24 ФБУН ГНЦ ПМБ
 Телефон: (4967) 36-0079
 E-mail: xopgi@yandex.ru

Information about co-authors:

Zinaida M. Ermolenko, PhD (Biological Sciences), Researcher of Laboratory of Antimicrobials, Department of Molecular Microbiology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор
 Address: SRCAMB 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
 Phone: (4967) 36-0079
 E-mail: z.yermolenko@inbox.ru

Pavel V. Slukin, Researcher of Laboratory of Antimicrobials, Department of Molecular Microbiology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор
 Address: SRCAMB 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
 Phone: (4967) 36-0079
 E-mail: xopgi@yandex.ru

Опыт преподавания медицинской микробиологии на медико-профилактическом факультете

Г.Ш.Исаева^{1,2}, Г.Г.Бадамшина^{2,3}, С.Н.Габидуллина^{1,2}

¹ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, Казань, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», Казань, Российская Федерация;

³ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Казань, Российская Федерация

Возрастание инфекционных рисков обуславливает необходимость совершенствования системы подготовки медицинских микробиологов. В статье представлен опыт проведения практических занятий по микробиологии для студентов медико-профилактического факультета ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» МЗ РФ на базе отдела микробиологических исследований ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)». Показано, что возможность освоения практических навыков работы с современным оборудованием и знакомство с инновационными технологиями стимулируют у студентов интерес к дисциплине и профессии врача-микробиолога, создают условия для творческой и научной работы.

Ключевые слова: медико-профилактическое дело, кафедра микробиологии, педагогические технологии, практические навыки, профессионально-ориентированный подход

Для цитирования: Исаева Г.Ш., Бадамшина Г.Г., Габидуллина С.Н. Опыт преподавания медицинской микробиологии на медико-профилактическом факультете. Бактериология. 2021; 6(2): 62–67. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-2-62-67

A teaching experience of medical microbiology at the faculty of medicine and prevention

G.Sh.Isaeva^{1,2}, G.G.Badamshina^{2,3}, S.N.Gabidullina^{1,2}

¹Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare of Russian Federation, Kazan, Russian Federation;

²Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation;

³Center for Hygiene and Epidemiology in the Republic of Tatarstan (Tatarstan), Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Kazan, Russian Federation

The increase in infectious risks makes it necessary to improve the system of training of medical microbiologists. The article presents the experience of conducting practical classes in microbiology for students of the Faculty of Medicine and Prevention of the Kazan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation on the basis of the Department of Microbiological Research of the Center for Hygiene and Epidemiology in the Republic of Tatarstan (Tatarstan). It is shown that the possibility of mastering practical skills of working with modern equipment and familiarity with innovative technologies stimulates students' interest in the discipline and profession of a microbiologist, creates conditions for creative and scientific work.

Key words: preventive medicine, department of microbiology, pedagogical technologies, practical skills, professionally oriented approach

For citation: Isaeva G.Sh., Badamshina G.G., Gabidullina S.N. A teaching experience of medical microbiology at the faculty of medicine and prevention. Bacteriology. 2021; 6(2): 62–67. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2021-2-62-67

Для корреспонденции:

Исаева Гузель Шавхатовна, доктор медицинских наук, заместитель директора ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, заведующая кафедрой микробиологии им. В.М.Аристовского ФГБОУ «Казанский государственный медицинский университет»

Адрес: 420012, Казань, ул. Бутлерова, 49

Телефон: (843) 236-6781

E-mail: guisaeva@rambler.ru

Статья поступила 30.03.2021 г., принята к печати 30.08.2021 г.

For correspondence:

Guzel Sh. Isaeva, MD, PhD, DSc, deputy director of the Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rosпотребнадзор, head of the V.M.Aristovskiy department of microbiology, Kazan State Medical University

Address: 49 Butlerov str., Kazan, 420012, Russian Federation

Phone: (843) 236-6781

E-mail: guisaeva@rambler.ru

The article was received 30.03.2021, accepted for publication 30.08.2021

Современный мир характеризуется возрастанием инфекционных рисков общественному здоровью и биологической безопасности, связанных с угрозами распространения эпидемий известных инфекций, появлением новых и «возвращающихся» инфекций, распространением микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью к антимикробным препаратам. Стихийные бедствия, техногенные катастрофы, опасность биотерроризма, создание генномодифицированных микроорганизмов усугубляют риски распространения опасных патогенов. Отдельная угроза связана с развитием новых технологий синтетической микробиологии, позволяющей синтезировать новых возбудителей или реанимировать «старых» с приданием им новых вирулентных свойств, используя новые возможности геномной инженерии с применением CRISPR-CAS системы (clustered regularly interspaced short palindromic repeats – associated sequence), позволяющей осуществлять оживление особо опасных вирусов *de novo*.

Глобальные угрозы для жизни и здоровья населения Российской Федерации (РФ), связанные с биологическими факторами, четко сформулированы в Указах Президента РФ «Основы государственной политики Российской Федерации в области обеспечения химической и биологической безопасности на период до 2025 года и дальнейшую перспективу» [1] и «О стратегии развития здравоохранения в Российской Федерации на период до 2025 года» [2]. Одним из факторов, негативно влияющих на эффективность и качество оказываемой медицинской помощи, может являться недостаточная эффективность работы микробиологических лабораторий медицинских организаций, в связи с чем перед медицинским сообществом поставлена задача по дальнейшему укреплению кадрового потенциала и совершенствованию системы подготовки специалистов в области биологической безопасности, в том числе микробиологов (бактериологов, вирусологов, паразитологов, микологов), а также повышение привлекательности и престижа этих специальностей.

Цель: обобщить опыт работы кафедры микробиологии им. В.М.Аристовского ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» МЗ РФ по осуществлению практико-ориентированного подхода к обучению студентов медико-профилактического факультета с целью формирования ранней профессиональной мотивации.

В современных условиях реформирования систем образования и здравоохранения возрастает значение фундаментальных дисциплин при подготовке специалистов с высшим медицинским образованием. Медицинская микробиология давно вышла за рамки чисто теоретического предмета и приобрела статус прикладной клинической дисциплины, абсолютно необходимой врачу любой специальности. Министерством здравоохранения в 2019 г. внесено изменение в номенклатуру специальностей специалистов, имеющих медицинское и фармацевтическое образование, в частности утверждена новая специальность «Медицинская микробиология» (Приказ МЗ РФ №996н от 9 декабря 2019 г. «О внесении изменений в номенклатуру специальностей специалистов, имеющих высшее медицинское и фармацевтическое образование, утвержденную приказом МЗ РФ от 7 октября 2015 года №700н»). В целях объединения существую-

щих специальностей «Вирусология», «Бактериология», «Лабораторная микология», «Паразитология» разработан проект профессионального стандарта «Специалист в области медицинской микробиологии» [3], который 3 июля 2020 г. был направлен на утверждение в Министерство труда и социальной защиты РФ. На врача – медицинского микробиолога, согласно новому профессиональному стандарту, будут возлагаться широкие трудовые функции: организационно-методическое обеспечение микробиологических исследований (клинических, санитарных, бактериологических, вирусологических, микологических, паразитологических) и их выполнение с использованием всего арсенала современных диагностических методов, включая иммуносерологические, молекулярно-генетические и масс-спектрометрические; оказание консультативной помощи медицинским работникам в вопросах планирования микробиологических исследований с целью диагностики или обследования объектов окружающей среды и интерпретации результатов. Именно последняя трудовая функция отличает врача – медицинского микробиолога от биолога, который способен непосредственно выполнять микробиологические исследования, но их планирование и интерпретация результатов являются уже врачебной функцией, и это должно снизить тенденцию замены врачебных кадров в медицинских лабораториях специалистами с биологическим образованием [4].

Кроме того, распоряжением Правительства РФ от 30 декабря 2020 г. №3680-р утвержден План мероприятий («дорожная карта») по развитию и укреплению системы федерального государственного санитарно-эпидемиологического надзора на 2021–2028 гг. [5]. Одной из задач «дорожной карты» является укрепление инфраструктуры и ресурсное обеспечение лабораторной базы органов и организаций, входящих в систему федерального государственного санитарно-эпидемиологического надзора, что позволит обеспечить совершенствование лабораторной диагностики инфекционных заболеваний.

Эти преобразования потребуют полного переоснащения кафедр микробиологии, разработки новых учебных программ, утверждения перечня коллекционных культур микроорганизмов, разрешенных для применения в учебных целях, и пересмотра требований биобезопасности для работы с ними, привлечения клинических баз (заключения договоров с практическими лабораториями), а также переобучения преподавательского состава, способного обеспечить подготовку специалистов всех четырех микробиологических направлений. Согласно новым Квалификационным требованиям к медицинским и фармацевтическим работникам с высшим образованием (Приказ Минздрава России №940н от 4 сентября 2020 г. «О внесении изменений в квалификационные требования к медицинским и фармацевтическим работникам с высшим образованием по направлению подготовки «Здравоохранение и медицинские науки», утвержденные приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 8 октября 2015 г. №707н») медицинским микробиологом может стать выпускник различных факультетов медицинских вузов («Медико-профилактическое дело», «Лечебное дело», «Педиатрия» и «Медицинская биохимия»), но традиционно кадровый резерв для микробиологических лабораторий составляют преимущественно выпуск-



Рис. 1. Стенд кафедры микробиологии им. академика В.М.Аристовского Научно-практического центра медико-профилактического факультета на базе ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан».

ники медико-профилактического факультета, что диктует необходимость разработки и внедрения в учебный процесс методов активного приобретения студентами дополнительных практических навыков для использования их в будущей профессиональной деятельности и раннего профориентирования.

Такой опыт преподавания дисциплины накоплен кафедрой микробиологии им. В.М.Аристовского ФГБОУ «Казанский государственный медицинский университет» в рамках функционирования Научно-практического центра медико-профилактического факультета на базе ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)» (далее ЦГиЭ) (рис. 1). С 2017–2018 учебного года практические занятия для студентов медико-профилактического факультета проходят на базе отдела микробиологических исследований ЦГиЭ, в состав которого входят лаборатория бактериологических исследований, лаборатория диагностики особо опасных и вирусных инфекций и лаборатория паразитологических исследований. Лаборатории оснащены современным оборудованием для проведения всей номенклатуры исследований в соответствии с областью аккредитации: время-пролетный масс-спектрометр MALDI-TOF, оборудование для полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени и с электрофоретической детекцией, секвенатор, автоматические микробиологические анализаторы для количественного подсчета микроорганизмов и

определения патогенов в пищевых продуктах (Тетро, miniVidas), автоматическая станция для выделения нуклеиновых кислот, ИФА-анализаторы «Лазурит», «Эволис», микроскопы с программным обеспечением для визуализации и сохранения информации и т.д.

На базе ЦГиЭ обучение по дисциплине «Микробиология, вирусология» проходят студенты 2–3-го курсов медико-профилактического факультета в течение двух семестров. В соответствии с рабочей программой изучаются темы по общей микробиологии, частному курсу, включающему частную бактериологию, вирусологию, микологию, протозоологию, а также основы санитарной и клинической микробиологии. Изучение дисциплины начинается с ознакомления студентов с организацией микробиологической лаборатории, правилами техники безопасности при работе с патогенными биологическими агентами (ПБА), реактивами, приборами, правилами противопожарной безопасности. Изучение каждой темы сопровождается демонстрацией приборной базы и обучением навыкам работы на данном оборудовании. Например, изучение темы «Морфология и классификация микробов» проходит с применением различных типов микроскопов (светового, иммерсионного, люминесцентного, фазово-контрастного), студенты самостоятельно готовят мазки, окрашивают по Граму, микроскопируют, изучают подвижность бактерий (рис. 2). При изучении темы «Физиология микробов» студенты занимаются приготовлением питательных сред, изучением условий стерилизации (автоклавы, сухожаровые шкафы) и культивирования (термостаты, CO₂-инкубаторы, анаэробостаты), методов идентификации масс-спектрометрическими методами и с помощью классических (СИБ) и современных мультимикротестов (API-тесты).

Занятие начинается в учебной аудитории с разбора теоретического материала, вторая часть проходит в лаборато-



Рис. 2. Работа с микроскопами.



Рис. 3. Отбор подозрительных колоний.



Рис. 4. Учет результатов санитарно-бактериологического исследования воздуха.

риях, где студенты выполняют практическую работу. Результаты практической работы по каждой теме оформляются студентами в виде протокола, форма которого содержит следующие разделы: дата исследования, материал, ход исследования, результаты и выводы. Например, студенты самостоятельно выделяют чистую культуру *Staphylococcus aureus* из смеси бактерий и идентифицируют ее, определяют чувствительность выделенной культуры к антибиотикам диско-диффузионным методом. В ходе выполнения данной практической работы, рассчитанной на несколько этапов (дней) исследования, студенты получают практические навыки по отработке техники посевов и пересевов, микроскопии, идентификации культуры по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам, а также постановки антибиотикограммы (рис. 3). Особое внимание в ходе выполнения практической работы уделяется формулировке выводов, осмысление которых способствует формированию клинического мышления у будущего врача. Студенты определяют спектр антибиотиков, к которым чувствительна культура, и делают выводы по выбору наиболее эффективного препарата. Для закрепления полученных на занятии навыков студенты решают ситуационные задачи, в которых описаны клинические случаи и представлены результаты бактериологических исследований с антибиотикограммой, на ос-

новании чего обучающиеся должны обосновать выбор того или иного антибиотика для лечения данного пациента с учетом эффективности, спектра и побочного действия препарата. Такой комплексный подход к изучению темы служит эффективным оценочным средством, позволяющим преподавателю объективно и максимально полно оценить уровень овладения практическими навыками и теоретическими знаниями в ходе самостоятельной работы студентов. Отдельные практические занятия посвящены профильным тематикам – основам санитарной микробиологии, на которых студенты медико-профилактического факультета учатся не только выполнять санитарно-бактериологические исследования объектов окружающей среды (воды, пищевых продуктов, смывов, почвы, воздуха), но и интерпретировать полученные результаты на соответствие требованиям нормативно-методической документации (ГОСТ, технические регламенты, СанПиН и т.д.) (рис. 4).

Согласно опросу, проведенному среди студентов после введения занятий на клинической базе ЦГиЭ, обучающиеся отмечают повышение интереса к предмету, возможность освоения навыков по работе с современным оборудованием, доступность и наглядность учебного материала (в т.ч. возможность визуализации результатов молекулярно-генетических, вирусологических, серологических, масс-спектрометрических исследований), что не всегда возможно при проведении занятий непосредственно на кафедре (рис. 5, 6). Результаты анкетирования студентов, проведенные отделом качества КГМУ и представленные в таблице, показывают повышение уровня технической обеспеченности занятий, их интенсивности при сохранении уровня содержательности лекций и требовательности на экзаменах после введения практики проведения занятий на базе ЦГиЭ. Также нужно отметить такой немаловажный аспект этого нововведения, как ранняя (начиная со второго курса) профессиональная ориентация студентов медико-профилактического факультета в специальности профилактической медицины и усиление интереса студентов к профессии «врач-микробиолог». Студенты, находясь в стенах современной лаборатории, которая по существу является сложным инженерным комплексом, оснащенным высокотехнологическим оборудованием, автоматизированными системами для проведения микробиологических, иммунологических,

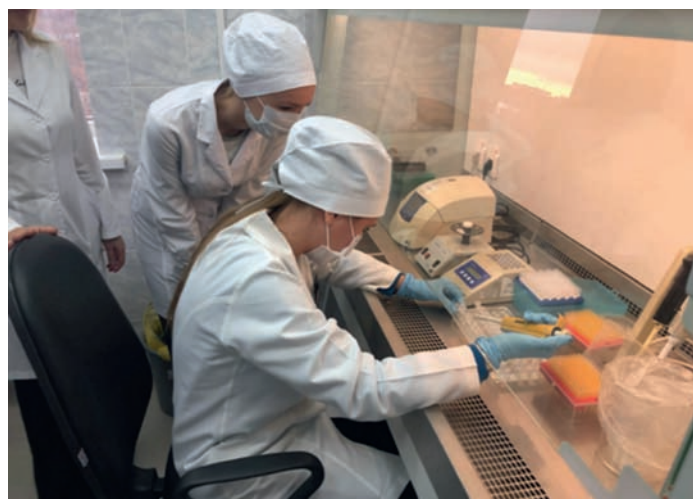


Рис. 5. Постановка РНГА.



Рис. 6. Учет результатов ПЦР в реальном времени.

молекулярно-генетических исследований, отмечают повышение привлекательности и престижа профессии врача-микробиолога, что может способствовать выбору этой специальности для дальнейшей трудовой деятельности молодого специалиста.

В целях закрепления и практического применения знаний, полученных студентами медико-профилактического факультета при изучении дисциплины «Микробиология, вирусология» после окончания третьего курса, с 2019–2020 учебного года введена летняя производственная практика «Помощник лаборанта бактериологической и санитарно-гигиенической лабораторий». В соответствии с разработанной учебной программой практика организуется на базе ЦГиЭ и его филиалов, где студенты получают первичные профессиональные умения и навыки лаборанта микробиологической лаборатории, осваивают методики микробиологической диагностики инфекционных заболеваний и санитарно-бактериологических исследований. Текущий контроль успеваемости (ТКУ) по практике проводится в форме оценки полученных навыков в ходе прохождения практики посредством ежедневной проверки выполнения заданий на образовательном портале КГМУ; заполнения электронного дневника; сопровождения студента во время выполнения практических заданий на базе практики; оценки выполнения индивидуального задания. При проведении промежуточной аттестации применяется балльно-рейтинговая система, в которой учитываются результаты ТКУ в течение прохождения практики, проводится оценка сформированности навыков и умений на основе анализа дневника, анализ представленной характеристики, письменных ответов на тестовые вопросы. Дополнительно студенты получают темы научно-исследовательских работ, которые выполняют в ходе производственной практики. По итогам летней производственной практики организуется студенческая научная конференция медико-профилактического факультета, на которой студенты докладывают результаты исследований, а наиболее интересные доклады поощряются призами и грамотами.

Научно-исследовательская работа со студентами проводится на кафедре микробиологии в рамках работы студенческого научного кружка в течение всего учебного года. Научно-исследовательские работы по микробиологии сту-

денты выполняют на базе ЦГиЭ и ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт» Роспотребнадзора под руководством опытных преподавателей и ведущих научных сотрудников. Результаты исследований студенты представляют на ежегодных студенческих научно-практических конференциях различного уровня.

Ежегодно ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России проводит фестиваль студенческой науки – Международный молодежный научный медицинский форум «Белые цветы». С 2018 г. секция «Микробиология», проводимая кафедрой микробиологии им. академика В.М.Аристовского, делится на две подсекции – «Микробиология в практической медицине» и «Современные аспекты в медицинской микробиологии», на которых ежегодно представляется около 30 докладов по теоретическим и практическим темам медицинской микробиологии. Отдельно нужно отметить работу исторической секции «История и создатели профильных кафедр медико-профилактического факультета», на которой студенты выступают с докладами об истории организации кафедр медико-профилактического факультета КГМУ, известных ученых, работавших на этих кафедрах. Подготовка докладов на исторические темы включает работу с архивом кафедры, семейными архивами, работу с документами из Национального архива Республики Татарстан, фотографиями, написа-

Таблица. Результаты анкетирования «Кафедра глазами студента» обучающихся на медико-профилактическом факультете

№	Критерии оценки	Результаты опроса студентов	
		до обучения на базе ЦГиЭ 2012 г. (n = 31)	через 2 года обучения на базе ЦГиЭ 2019–2020 гг. (n = 74)
1	Группа обеспечена гардеробом, учебной комнатой		
	Практически всегда	91%	94%
	Не всегда	7%	4,5%
2	Читаются четкие, содержательные лекции		
	Практически всегда	91%	90,9%
	Не всегда	7%	9,1%
3	Занятия в достаточной мере обеспечены пособиями и материалами		
	Практически всегда	78%	90,9%
	Не всегда	20%	9,1%
4	Занятия проводятся интенсивно, студенты все время имеют задание		
	Практически всегда	81%	98,5%
	Не всегда	17%	1,5%
5	Уровень требовательности на экзамене соответствует объему и качеству преподавания		
	Практически всегда	68%	68,2%
	Не всегда	26%	12,1%
	Не могу оценить	7%	19,7%

ние доклада, тезиса и оформление презентаций. Этот вид деятельности имеет не только научный интерес, но и оказывает большое воспитательное воздействие на молодое поколение, формируя чувства уважения и благодарности старшим поколениям за их вклад в развитие науки.

В 2020 г. кафедра микробиологии им. академика В.М.Аристовского Казанского государственного медицинского университета отметила свой 100-летний юбилей. На сегодняшний день кафедра микробиологии динамично развивается, сохраняя при этом наработанные годами хорошие традиции в преподавании микробиологии.

Заключение

Работа кафедры медицинского вуза – это многогранный кропотливый труд, включающий учебную, научную, воспитательную деятельность, направленную на обучение студентов теоретическим основам медицинских знаний, получение практических навыков и умений, развитие клинического мышления, закладывающих основу для профессионального развития и подготовки к практической деятельности врача. Опыт проведения практических занятий по микробиологии на клинической базе ЦГиЭ имеет не только практико-ориентированную, но и профессионально-ориентированную направленность, вектор которой нацелен на подготовку высококвалифицированных кадров для профилактической медицины. Профессионально-ориентированный подход при подготовке студентов обеспечивает возможность наиболее полного освоения учебной программы в рамках современных требований ФГОС, рациональное сочетание аудиторной и самостоятельной работы, создание условий для научной и творческой деятельности студентов, возможность ознакомления с инновационными технологиями, применяемыми в медицинской микробиологии на современном этапе, повышение мотивированности студентов к обучению и их ранней профессиональной ориентированности.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

1. Указ Президента Российской Федерации от 11 марта 2019 г. №97 «Об Основах государственной политики РФ в области обеспечения химической и биологической безопасности на период до 2025 года и дальнейшую перспективу» [Электронный ресурс]. URL: <http://kremlin.ru/acts/bank/44066> (дата доступа 05.03.2021).
2. Указ Президента Российской Федерации В.В.Путина от 6 июня 2019 г. №254 «О Стратегии развития здравоохранения в Российской Федерации на период до 2025 г.» [Электронный ресурс]. URL: <http://www.kremlin.ru/acts/bank/44326> (дата доступа 05.03.2021).
3. Проект профессионального стандарта «Специалист в области медицинской микробиологии» [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.antibiotic.ru/minzdrav/category/professionalnyj-standart/obnovlennaya-versiya-professionalnogo-standarta-specialist-v-oblasti-medicinskoj-mikrobiologii/>

4. Исаева ГШ, Габидуллина СН. Актуальные аспекты преподавания микробиологии в медицинском вузе и подготовки врачей-микробиологов на современном этапе. Бактериология. 2018;3(2):51-56. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-2-51-56
5. Распоряжение Правительства РФ от 30 декабря 2020 г. N3680-р «Об утверждении плана мероприятий (“дорожной карты”) по развитию и укреплению системы федерального государственного санитарно-эпидемиологического надзора на 2021–2028 гг.» URL: <http://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/400065888/?prime> (accessed 03.03.2021).

References

1. Decree of the President of the Russian Federation No 97 "On the fundamentals of the state policy of the Russian Federation in the field of chemical and biological safety for the period up to 2025 and beyond". URL: <http://kremlin.ru/acts/bank/44066> (accessed 05.03.2021). (In Russian).
2. Decree of the President of the Russian Federation No 254 "On the strategy for the development of healthcare in the Russian Federation for the period until 2025" from 06.06.2019. URL: <http://www.kremlin.ru/acts/bank/44326> (accessed 05.03.2021). (In Russian).
3. Draft professional standard "Specialist in the field of medical microbiology" [Electronic resource]. Available at: <https://www.antibiotic.ru/minzdrav/category/professionalnyj-standart/obnovlennaya-versiya-professionalnogo-standarta-specialist-v-oblasti-medicinskoj-mikrobiologii/> (accessed 05.03.2021). (In Russian).
4. Isaeva GSh, Gabidullina SN. Actual aspects of teaching microbiology at a medical university and training of doctors-microbiologists at the present stage. Bacteriology. 2018;3(2):51-56. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-2-51-56 (In Russian).
5. Order of the Government of the Russian Federation of December 30, 2020 No 3680-r "On approval of the action plan for the development and strengthening of the federal state sanitary and epidemiological surveillance system for 2021–2028". URL: <http://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/400065888/?prime> (accessed 03.03.2021). (In Russian).

Информация об авторах:

Бадамшина Гульнара Галимяновна, кандидат медицинских наук, заведующая отделом микробиологических исследований ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)» Роспотребнадзора; доцент кафедры гигиены, медицины труда ФГБОУ «Казанский государственный медицинский университет»
Адрес: 420015, Казань, ул. Большая Красная, 67
Телефон: (843) 236-6252
E-mail: gulnara.badamshina@fbuz16.ru

Габидуллина Светлана Назаровна, кандидат медицинских наук, начальник отдела кадров ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, доцент кафедры общей гигиены ФГБОУ «Казанский государственный медицинский университет» МЗ РФ
Адрес: 420061, Казань, ул. Сеченова, 13А
Телефон: (843) 236-6252
E-mail: mar228@mail.ru

Information about authors:

Gulnara G. Badamshina, MD, PhD, head of the department of microbiological research, Center for Hygiene and Epidemiology in the Republic of Tatarstan (Tatarstan), Rosпотребнадзор; associate professor of the department of hygiene, Kazan State Medical University
Address: 67 Bolshaya Krasnaya str., Kazan, 420015, Russian Federation
Phone: (843) 236-6252
E-mail: gulnara.badamshina@fbuz16.ru

Svetlana N. Gabidullina MD, PhD, head of the human resources department, Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Rosпотребнадзор, associate professor, department of general hygiene, Kazan State Medical University
Address: 13A Sechenov str., Kazan, 420061, Russian Federation
Phone: (843) 236-6252
E-mail: mar228@mail.ru

Правила оформления статей

(основные положения)

Журнал «Бактериология» публикуется на русском языке (резюме статей и ключевые слова – на русском и английском языках), распространяется на бумажном носителе и публикуется в электронной форме.

К публикации принимаются экспериментальные и обзорные статьи, а также короткие сообщения по прикладным и фундаментальным вопросам медицинской, ветеринарной и сельскохозяйственной бактериологии. Статьи принимаются без ограничения объема от граждан любой страны на русском языке. По согласованию с редакцией допускается публикация рекламных материалов, соответствующих тематике журнала.

Публикации, созданные в порядке выполнения служебного задания, должны иметь направление от учреждения, в котором выполнена работа. В направлении следует указать, что представленный материал ранее не был нигде опубликован и не находится на рассмотрении для публикации в других изданиях (включая зарубежные).

К публикации прилагается экспертное заключение организации об отсутствии ограничений для открытой публикации представленных материалов.

Материалы для публикации, включая сопровождающие документы, направляются в редакцию в электронной форме по адресу: info@obolensk.org или bacteriology@obolensk.org. В теме сообщения следует указать «Бактериология».

Требования к оформлению статьи.

Экспериментальная статья должна состоять из разделов: введение, материалы и методы, результаты и обсуждение, список литературы.

Рукопись должна быть подготовлена в текстовом редакторе MS Word, шрифт – Times New Roman, размер – 14, межстрочный интервал – 1,5, поля – 2 см. Статья должна включать резюме и ключевые слова на русском и английском языках. Нумерация всех страниц рукописи сквозная.

Краткие сообщения представляются без таблиц и рисунков.

Статья должна быть подписана всеми авторами, включая иностранных.

К статье следует приложить сведения об авторах на русском и английском языках с указанием адреса, контактных телефонов (служебного и мобильного), факса и электронной почты с указанием автора, ответственного за переписку с редакцией.

Заглавие статьи оформляется следующим образом:

НАЗВАНИЕ СТАТЬИ

И. И. Иванов*, П. П. Петров**

*Первая организация, г. Москва, РФ

**Вторая организация, Техас, США

E-mail

[далее текст аннотации и ключевые слова]

Текст статьи, включая резюме, список литературы, подписи к рисункам и таблицы, должны быть оформлены одним файлом, а каждый рисунок – отдельным файлом.

РЕЗЮМЕ статьи должно быть представлено на русском и английском языках, отражать основные полученные результаты и содержать не более 250 слов.

КЛЮЧЕВЫХ СЛОВ (словосочетаний) должно быть не более 10, на русском и английском языках.

Во ВВЕДЕНИИ (без заголовка) следует изложить мотивацию написания данной работы и отдельным абзацем обозначить цель исследования. Дополнительно на английском языке.

Раздел МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ должен содержать сведения об объекте исследования (включая источник получения, название коллекции) и краткое описание использованных методик, позволяющее их воспроизвести (на ранее опубликованные и общеизвестные методы дается ссылка); для приборов и реактивов указываются название фирмы на языке оригинала в кавычках и страны в скобках.

Следует использовать общепринятые современные сокращения мер, физических, химических и математических величин, терминов и т.д. Единицы измерения должны даваться в единицах СИ (Система Интернациональная). Обозначения мутантных и рекомбинантных форм микроорганизмов следует приводить в соответствии с международными правилами. Для трехбуквенного обозначения генов бактерий используют строчные буквы (курсив).

Рисунки и таблицы размещаются в тексте статьи в соответствии с пожеланиями авторов. Кроме того, черно-белые и цветные рисунки (в формате *.jpg) прилагаются к статье в виде отдельных файлов (ris1.jpg, ris2.jpg и т.д.)

Сведения о финансовой поддержке работы приводятся в конце текста статьи перед списком литературы.

В СПИСКЕ ЛИТЕРАТУРЫ указываются авторы, название статьи, название журнала или сборника, год, номер, страницы. Для названия журналов используются общепринятые сокращения (<http://www.nlm.nih.gov/>).

В случае невыполнения настоящих правил оформления статья не принимается и отсылается авторам на доработку.

Редакция оставляет за собой право редактировать статьи по согласованию с автором.

Присланные в редакцию статьи проходят процедуру рецензирования. В случае отклонения статьи редакция направляет автору мотивированный отказ.

Публикация – бесплатная.

Статьи направлять по адресу:
142279, Московская обл.,
Серпуховский р-н, п. Оболенск, ГНЦ ПМБ
Тел. (4967) 36-00-46
Факс (4967) 36-00-10
E-mail: info@obolensk.org
или
bacteriology@obolensk.org