© Коллектив авторов, 2017

УДК 579.234 (862.1)

DOI – <http://doi.org/10.14300/mnnc.2017.12010>

ISSN – 2073-8137

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЦЕФОТАКСИМА НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОК *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ПО ДАННЫМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

В. А. Батури́н^{1, 2}, М. А. Селимов^{1, 3}, А. Д. Болатчиев¹, Р. О. Будкевич³,
В. В. Садовой⁴, Е. А. Куница́на²

¹ Ставропольский государственный медицинский университет, Россия

² ООО «Центр клинической фармакологии и фармакотерапии», Ставрополь, Россия

³ Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия

⁴ Северо-Кавказский федеральный университет (филиал), Пятигорск, Россия

STUDY OF CEFOTAXIME INFLUENCE ON MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE CELLS OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* BY ATOMIC FORCE MICROSCOPY

Baturin V. A.^{1, 2}, Selimov M. A.^{1, 3}, Bolatchiev A. D.¹, Budkevich R. O.³,
Sadovoy V. V.⁴, Kunitsyna E. A.²

¹ Stavropol State Medical University, Russia

² The Centre for Clinical Pharmacology and Pharmacotherapy, Stavropol, Russia

³ The North Caucasus Federal University, Stavropol, Russia

⁴ The North Caucasus Federal University Affiliation, Pyatigorsk, Russia

С помощью методов высокоразрешающей атомно-силовой микроскопии изучено влияние цефотаксима на морфологические и механические свойства клеток грамположительных микроорганизмов (*Staphylococcus aureus*). Показано различие морфологических особенностей бактериальных популяций по характеру реагирования на действие антибиотика. Общим моментом являлось уменьшение диаметра и увеличение высотных характеристик клеток, что может быть обусловлено действием внутреннего осмотического давления на клеточную стенку, снизившую свою ригидность под действием цефотаксима.

Ключевые слова: цефотаксим, атомно-силовая микроскопия, *Staphylococcus aureus*, морфометрия бактериальных клеток

With the use of high-resolution atomic force microscopy the effect of cefotaxime on morphological and mechanical properties of gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*) cells was studied. The difference in the morphological features of bacterial populations was shown by the nature of the response to the antimicrobial agent. The common point was a decrease in diameter and an increase in the altitude characteristics of cells, which may be due to internal osmotic pressure on the cell wall, which reduced its rigidity under the action of cefotaxime.

Keywords: cefotaxime, atomic force microscopy, *Staphylococcus aureus*, bacterial cells morphometry

Одной из важнейших проблем современной медицины является рост резистентности микроорганизмов к противомикробным препаратам [1, 6, 7]. Обоснование и стандартизация выбора антибактериального препарата при инфекционных процессах невозможна без объективной информации о структуре возбудителей и их чувствительности к противомикробным средствам [15].

Наблюдается широкое распространение антибиотико-устойчивых возбудителей инфекционных заболеваний, что диктует необходимость поиска новых антибиотиков, способных воздействовать как на чувствительные, так и на резистентные микроор-

ганизмы [1, 7]. Для достижения указанных целей в последнее время все чаще применяются динамические системы, позволяющие изучать фармакодинамику антибактериальных препаратов *in vitro* и оценивать их эффективность при фармакокинетически обусловленных изменениях концентрации препаратов [20].

Основными способами определения чувствительности бактерий к антимикробным препаратам являются метод серийных разведений и диско-диффузионный метод [4]. Помимо этого рядом исследователей для определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам предложено использование методов: радиоиммун-

ного (RIA) и ферментативного анализа [19], поверхностного плазмонного резонанса [12]. Стоит отметить, что указанные методы длительны или требуют специфической процедуры пробоподготовки, кроме того, они обладают недостаточной информативностью [2].

Создание новых препаратов с антимикробной активностью, а также совершенствование существующих требуют использования большого количества методов, позволяющих комплексно оценить механизмы и последствия их воздействия на бактериальные клетки [11].

Одним из подобных методов, представляющих в настоящее время большой интерес, является атомно-силовая микроскопия (АСМ) [9], основанная на оценке взаимодействия упругого зонда (кантилевера) с поверхностью исследуемого образца. Сила, действующая на зонд со стороны поверхности [3], приводит к изгибу консоли, которая, перемещаясь относительно поверхности и реагируя на силовое взаимодействие, регистрирует ее рельеф.

Исследования бактериальных клеток и их биопленок с использованием микроскопических методов [18] направлены на выявление морфологических, биохимических и топографических свойств и изменений как единичных клеток [10], так и образуемого сообществом микроорганизмов внеклеточного матрикса.

Цель работы: экспериментальное исследование морфологических изменений в микробных клетках *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) при воздействии антимикробного препарата цефотаксима, реализованное с использованием метода АСМ.

Материал и методы. Основным объектом исследования являлись штаммы *S. aureus*, чувствительные к бета-лактамам антибиотикам (MSSA). Бактерии выращивали на маннитол-солевом агаре Becton Dickinson (18–24 ч, 37 °C) в бактериологической лаборатории «Центра клинической фармакологии и фармакотерапии» (Ставрополь).

Для воздействия на *S. aureus* использовался антибиотик цефотаксим («Цефотаксим», порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения, 1000 мг, ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов», Беларусь), бета-лактамный антибактериальный препарат, относящийся к цефалоспорином III поколения. Препарат обладает бактерицидной активностью в отношении многих грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. Механизм антимикробного действия цефотаксима связан с подавлением синтеза клеточной стенки микробов за счет аффинного связывания с пенициллинсвязывающими белками (PBP – penicillin-binding proteins), что приводит к ингибированию синтеза пептидогликана [14]. Таким образом, в результате дефицита пептидогликана, происходит лизис клеточной стенки под воздействием аутолитических ферментов. Вышеописанный механизм действия антибактериального препарата имеет характерные черты при проведении АСМ: происходит формирование гетерогенности морфологических, геометрических и механических свойств популяций бактерий, а также дезорганизация поверхностных клеточных структур [2]. Цефотаксим использовался в концентрациях вдвое превышающих средние значения MIC – 32 мкг/мл для *S. aureus* (MSSA) [13].

Бактериальный материал готовили на поверхности слюдяных пластин без использования адгезирующей обработки. Важно, что именно этот метод,

в отличие от других, используемых в практике, не оказывает существенного влияния на морфологию микробной клетки [16].

Производили смыв бактериальных клеток с поверхности питательной среды с помощью дистиллированной воды и доводили коэффициент экстинкции до стандартного значения 10 ME стандарта мутности. Затем наносили каплю (~ 5 мкл) свежеприготовленной суспензии бактериальных клеток для контроля и суспензии бактериальных клеток с антибиотиком для опытных образцов на поверхность свежесколотой слюдяной пластины. Для образцов первой группы (контроль, без воздействия антибиотика) и второй группы (цефотаксим – 32 мкг/мл) выдерживали в течение 5 минут. Для образцов третьей группы (контроль, без воздействия антибиотика) и четвертой группы (цефотаксим – 32 мкг/мл) экспозиция составляла 20 минут. Проводили смыв небольшим количеством дистиллированной воды и сразу же сушили большим потоком сжатого воздуха при комнатной температуре (20–25 °C) [17]. Образцы выдерживали для естественного досушивания в течение 16–20 ч. Все образцы готовили в 4-кратной повторности (к каждому из опытных и контрольных образцов выполнялась серия повторений). Измерение основных морфометрических характеристик проводили в многократной повторности как в рамках одного образца (в разных его участках), так и в рамках серии образцов.

Для определения диаметра направление измерения выбирали произвольно, замеряющие плоскости располагали на полувисоте клетки. Высоту измеряли путём построения профиля поверхности вдоль линии, ориентированной по направлению сканирования. В качестве нижней точки выбран уровень субстрата, в качестве верхней – самая высокая точка бактерии. Вычисление площади клетки проводили автоматически, первоначально выделяли объект (бактериальную клетку). Для корректного выделения объекта вычисляли средний уровень поверхности, среднее квадратичное отклонение от этого уровня и максимальную высоту, отсчитанную от среднего уровня. Затем сравнивали две плоскости, одна из которых имела высоту, промежуточную между средним уровнем и максимальной высотой бактериальной клетки, а вторая находилась на два среднеквадратичных отклонения выше среднего уровня. Данный метод оценки дает максимально валидные результаты при использовании гладких подложек [5].

АСМ полученных образцов проводили на базе НИЛ «Нанобиотехнология и биофизика» СКФУ (Ставрополь) с помощью АСМ NTegra Life (NT-MDT, Москва) в полуконтактном режиме. В процессе сканирования использовались кантилеверы HA_NC Etalon, Resonant frequency 154 kHz, Force constant $3,5 \pm 20$ %N/m, Curvature radius <10 nm. Оптимальные значения основных параметров при сканировании составляли: амплитуда колебаний кантилевера Resonance 14 единиц, начальная фаза его колебаний Phase 180°, скорость сканирования Frequency 0,5 Гц, коэффициент усиления цепи обратной связи FB Gain 0,23 единицы, Set Point 7,6 единицы. Анализ полученных изображений проводили при помощи прикладных программ Nova Px 3.4 (NT-MDT, Россия), позволяющих редактировать полученные АСМ изображения, а также представлять их в двух- (2D) и трехмерном (3D) формате.

Для обработки данных использовался статистический пакет «STATISTICA 10.0». Применялись

критерий Шапиро – Уилкса, непараметрический критерий U-критерий Манна – Уитни. Результаты представлены в виде медианы, интерквартильного размаха – Ме (25 %; 75 %) и стандартного отклонения (SD). Достоверными считались отличия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Каждый из представленных в трехмерном виде образцов, благодаря использованию АСМ, содержал информацию об основных морфометрических параметрах бактериальной клетки. Результаты АСМ представлены на рисунке 1. Обнаружено, что *S. aureus* адсорбируется преимущественно в виде групп клеток, иногда в виде небольших агрегатов либо формирует классические «гроздевидные» агрегаты на поверхности подложки.

Рис. 1. АСМ-изображение *S. aureus*: а) образец 1 (контроль – 5 мин); б) образец 2 (цефотаксим, 32 мкг/мл – 5 мин)

При АСМ контрольных образцов (1 и 3 групп), не подвергнутых действию антибиотика, микроорганизмы определялись как кокковидные объекты сферической формы с размерными характеристиками 1,13 мкм (группа 1) и 1,02 мкм (группа 3) в диаметре, 0,61 мкм (группа 1) и 0,59 мкм (группа 3) по высоте, 1,09 и 0,95 мкм по площади соответственно (представлены средние значения).

При АСМ опытных образцов (образцы групп 2 и 4) после действия антибиотика (рис. 2), через 5 и 20 мин, бактерии определялись как объекты сферической формы, с наличием морфологически аномальных изменений на поверхности. По сравнению с контрольными образцами они имели меньший диаметр (0,98 мкм – группа 2; 0,87 мкм – группа 4) и площадь (0,86 мкм – группа 2; 0,78 мкм – группа 4), но большую высоту (0,68 мкм – группа 2; 0,62 мкм – группа 4). Вероятной причиной зарегистрированных изменений могло быть действие внутреннего осмотического давления на клеточную стенку, снизившую ригидность под действием цефотаксима. Результаты АСМ-измерения морфологических характеристик бактериальных клеток, адсорбированных на поверхности слюдяной пластины, приведены (табл.) в виде медианы, интерквартильного размаха и стандартного отклонения.

Рис. 2. АСМ-изображение *S. aureus*: а) образец 3 (контроль – 20 мин); б) образец 4 (цефотаксим, 32 мкг/мл – 20 мин)

Таблица
Основные морфологические параметры
бактериальных клеток *S. aureus*

Исследуемые группы	Морфологические характеристики					
	Диаметр (мкм)		Высота (мкм)		Площадь (мкм ²)	
	Ме (25 %; 75 %)	SD	Ме (25 %; 75 %)	SD	Ме (25 %; 75 %)	SD
Группа образцов 1 (контроль, 5 мин)	1,13 (1,07; 1,17) (n=78)	0,08	0,61 (1,58; 0,66) (n=65)	0,05	1,09 (1,06; 1,13) (n=72)	0,06
Группа образцов 2 (опыт, 5 мин)	0,98 (0,93; 1,02) (n=64)	0,06	0,68 (0,66; 0,71) (n=65)	0,04	0,86 (0,82; 0,89) (n=74)	0,05
Р (гр. 1 и гр. 2)	<0,001*		<0,001*		<0,001*	
Группа образцов 3 (контроль, 20 мин)	1,02 (0,98; 1,08) (n=69)	0,06	0,59 (0,57; 0,61) (n=71)	0,03	0,95 (0,91; 0,99) (n=68)	0,04
Группа образцов 4 (опыт, 20 мин)	0,87 (0,82; 0,92) (n=71)	0,06	0,62 (0,59; 0,68) (n=71)	0,05	0,78 (0,69; 0,87) (n=78)	0,09
Р (гр. 2 и гр. 3)	<0,001*		<0,001*		<0,001*	

Примечание: Ме – медиана; интерквартильный размах (25 %; 75 %); SD – стандартное отклонение; n – количество измерений; * – отличия при $p < 0,05$.

Помимо основных морфометрических параметров бактериальной клетки также с высоким уровнем разрешения был определен показатель среднеквадратичной шероховатости (root mean square – RMS) поверхности бактерий с целью выявления различий между контрольными и опытными образцами, подвергнутыми воздействию цефотаксима.

Параметр RMS является наиболее часто используемым параметром измерения шероховатости поверхности и рассчитывается как среднеквадратичная величина отклонений размеров пиков и впадин от

средней линии поверхности подложки. Шероховатость профиля измеряется последовательно по нескольким базовым длинам, которые в совокупности представляют общую длину по поверхности.

На рисунке 3 приведены значения среднеквадратичной шероховатости (RMS) для всех образцов. Значения RMS, полученные при сканировании образцов, представлены автоматической обработкой данных, математическими методами, заложенными в программе NovaPx 3.4.

Рис. 3. Уровень среднеквадратичной шероховатости (root mean square RMS): а) группа 1 (контроль – экспозиция 5 мин); б) группа 2 (цефотаксим конц. 32 мкг/мл – экспозиция 5 мин); в) группа 3 (контроль – экспозиция 20 мин); г) группа 4 (цефотаксим конц. 32 мкг/мл – экспозиция 20 мин)

Для вычисления уровня шероховатости в каждом образце по нескольким отсканированным участкам отбирали от 60 до 80 бактериальных клеток, по которым проводили измерение (Roughness – Simple statistic). При этом область выборки участка поверхности каждой клетки выдерживалась в пределах $\sim 152 \text{ nm}^2$.

Уровень шероховатости в исследуемых образцах 2 (30,803 нм) и 4 (39,401 нм) (рис. 3, б, г) существенно отличался от RMS контрольных образцов 1 (16,716 нм) и 3 (17,844 нм) (рис. 3, а, в). Вероятно, причиной таких изменений могло являться действие цефотаксима за счет связывания с пенициллинсвязывающими белками (РВР), которое в конечном итоге приводит к ингибированию синтеза пептидогликана.

При этом дополнительными особенностями подобных объектов являлась более выраженная шероховатость поверхности в опытных образцах 2 и 4 (рис. 3, б, г), сопровождающаяся расположением вокруг них гранулярных структур, предположительно представляющих собой фрагменты пептидогликана, освобожденные во внешнюю среду при нарушении целостности клеточной стенки.

Высокоразрешающая АСМ хорошо подходит для решения задач практической диагностической мор-

фометрии бактериальных клеток. АСМ имеет уникальную возможность использования для изучения морфологических и механических свойств клеток про- и эукариотов, для визуализации последствий воздействия различных препаратов на модельные микроорганизмы.

С помощью АСМ впервые была оценена морфофункциональная реакция *S. aureus* на воздействие антибиотика цефотаксима. При этом зафиксировано формирование выраженной гетерогенности морфо-

логических и механических свойств популяции микроорганизма. Полученные данные согласуются с результатами других работ, в которых изучалось действие бета-лактамов антибиотиков на бактериальную клетку на иных микроорганизмах – грамотрицательные палочки [2, 5, 8]. Выбор *S. aureus*, в качестве модельной системы обусловлен множественной лекарственной устойчивостью

данного штамма бактерий к различным антибиотикам.

Заключение. Комплекс показателей морфологических характеристик и уровня шероховатости, определяющих защиту бактериальной клетки, позволяет достоверно и объективно выявлять различия в клетках микроорганизмов, а также в организованных ими сообществах (биопленках).

Полученные с помощью АСМ данные о связи между морфологической организацией и наличием обусловленных антибиотиком повреждений бактериальных клеток могут быть использованы при оценке потенциальной активности новых химических соединений в качестве антибактериальных, антисептических и дезинфицирующих средств на основе широкого спектра биофизических показателей. Результаты исследования могут свидетельствовать о необходимости выбора адекватного модельного объекта для исследования с помощью АСМ веществ с различными механизмами действия. В случае тестирования факторов, направленных на нарушение структуры пептидогликана, для этой цели могут быть рекомендованы грамположительные микроорганизмы, в частности *S. aureus*.

Литература

1. Батури, В. А. Бюллетень антибиотикорезистентности респираторных патогенов в ОИТАР г. Ставрополя / В. А. Батури, Е. В. Щетинин, И. Ф. Демиденко [и др.]. – Ставрополь: СтГМУ, 2014. – 24 с.
2. Ерохин, П. С. Атомно-силовая микроскопия как инструмент определения чувствительности бактерий к факторам биотической и абиотической природы :

автореф. дис. ... канд. физ.-мат. наук / Ерохин П. С. – Саратов, 2015. – 23 с.

3. Миронов, В. Л. Основы сканирующей зондовой микроскопии / В. Л. Миронов. – Н. Новгород, 2004. – 114 с.
4. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам : методические указания. – М., 2004. – 91 с.

5. Плесскова, С. Н. Нанотехнологическая АСМ-морфометрия бактериальных клеток. Физика твёрдого тела / С. Н. Плесскова, Е. В. Дубровин, И. С. Голубева [и др.] // Вестник Нижегородского университета им. Н. И. Лобачевского. – 2013. – № 2 (2). – С. 34–38.
6. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / под ред. Л. С. Страчунского, Ю. Б. Белоусова, С. Н. Козлова. – Смоленск : МАКМАХ, 2007. – 464 с.
7. Рациональная антимикробная терапия : руководство для практикующих врачей / под ред. С. В. Яковлева. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Литтерра, 2015. – 1040 с.
8. Яминский, И. В. Различия в клеточной поверхности гибридных бактерий *Escherichia coli* K12, наследующих rfb-a3,4 ген *Shigella flexneri*, выявляемые с помощью атомно-силовой микроскопии / И. В. Яминский, В. В. Демин, В. М. Бондаренко // Журн. микробиологии. – 1997. – № 6. – С. 15–18.
9. Binnig, G. Atomic force microscope / G. Binnig, C. F. Quate, Ch. Gerber // Phys. Rev. Lett. – 1986. – № 6 (59). – P. 930–933.
10. Bondareva, N. I. Influence of biologically active substances on the basis of *Medusomyces gysevii* (the tea mushroom) on bacteria of the genus *Lactobacillus* / N. I. Bondareva, L. D. Timchenko, I. V. Rzhepakovsky [et al.] // Rese. J. Pharm., Biol. Chem. Sci. (RJPBCS). – 2016. – Vol. 7, № 6. – P. 1224–1230.
11. Finberg, R. V. The Importance of bactericidal drugs: future directions in infectious disease / R. V. Finberg, R. C. Moellering, F. P. Tally // Clin. Infect. Dis. – 2004. – № 39. – P. 1314–1320.
12. Fuhrmann, A. Single-molecule force spectroscopy: a method for quantitative analysis of ligandreceptor interactions / A. Fuhrmann, R. Ros // Nanomedicine. – 2010. – Vol. 5, № 4. – P. 657–665.
13. Fuchs, P. C. Cefmenoxime (SCE-1365), a new cephalosporin: in vitro activity, comparison with other antimicrobial agents, beta-lactamase stability, and disk diffusion testing with tentative interpretive criteria / P. C. Fuchs, R. N. Jones, C. Thornsberry [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 1981. – Vol. 20, № 6. – P. 747–759.
14. LeFrock, J. L. Mechanism of action, antimicrobial activity, pharmacology, adverse effects, and clinical efficacy of cefotaxime / J. L. LeFrock, R. A. Prince, R. D. Leff // Pharmacotherapy. – 1982. – Vol. 2, № 4. – P. 174–784. doi: 10.1002/j.1875-9114.1982.tb03185
15. Martínez, J. L. Emergence and spread of antibiotic resistance: setting a parameter space / J. L. Martínez, F. Baquero // Ups. J. Med. Sci. – 2014. – Vol. 119, № 2. – P. 68–77. doi: 10.3109/03009734.2014.901444
16. Meyer, R. L. Flemming besenbacher. immobilisation of living bacteria for AFM imaging under physiological conditions / R. L. Meyer, X. Zhou, L. Tang [et al.] // Ultramicroscopy. – 2010. – Vol. 110, № 11. – P. 1349–1357. doi: 10.1016/j.ultramic.2010.06.010
17. Nikiyan, A. Humidity-dependent bacterial cells functional morphometry investigations using atomic force microscope / A. Nikiyan, A. Vasilchenko, D. Deryabin // Intern. J. Microbiol. – 2010. doi:10.1155/2010/704170
18. Volle, C. B. Spring constants and adhesive properties of native bacterial biofilm cells measured by atomic force microscope / C. B. Volle, M. A. Ferguson, K. E. Aidala [et al.] // Coll. Surf. B Biointerfaces. – 2008. – Vol. 67, № 1. – P. 32–40.
19. Saranya, S. Antagonistic activity and antibiotic sensitivity of Lactic acid bacteria from fermented dairy products / S. Saranya, N. Hemashenpagam // Adv. Appl. Sci. Res. – 2011. – Vol. 2, № 4. – P. 528–534.
20. Smirnova, M. V. Concentration-response relationships as a basis for choice of the optimal endpoints of the antimicrobial effect: daptomycin and vancomycin pharmacodynamics with staphylococci in an in vitro dynamic model / M. V. Smirnova, I. Yu. Lubenko // Intern. J. Antimicrobial Agents. – 2007. – Vol. 29, № 2. – P. 165–169.

References

1. Baturin V. A., Shchetinin Ye. V., Demidenko I. F., Korableva O. A. Byulleten antibiotikorezistentnosti respiratornykh patogenov v OITAR g. Stavropolya. Stavropol: StGMU, 2014.
2. Erokhin P. S. Atomno-silovaya mikroskopiya kak instrument opredeleniya chuvstvitelnosti bakteriy k faktoram bioticheskoy i abioticheskoy prirody: avtoref. dis. kand. fiz.-mat. Nauk. Saratov, 2015.
3. Mironov V. L. Osnovy skaniruyushchey zondovoy mikroskopii. N. Novgorod, 2004.
4. Opredeleniye chuvstvitelnosti mikroorganizmov k antibakterialnym preparatam. Metodicheskiye ukazaniya. M., 2004.
5. Pleskova S. N. Dubrovin Ye. V., Golubeva I. S., Gorshkova Ye. N., Pudovkina Ye. E. Fizika tvyordogo tela. Vestnik Nizhegorodskogo universiteta im. N. I. Lobachevskogo. – Solid state physics bulletin of the Nizhny Novgorod University, N. I. Lobachevsky. 2013;2(2):34-38.
6. Prakticheskoye rukovodstvo po antiinfektsionnoy khimioterapii. pod red. L. S. Strachunskogo, Yu. B. Belousova, S. N. Kozlova. Smolensk: «MAKMAKh», 2007.
7. Ratsionalnaya antimirbnaya terapiya. pod red. S. V. Yakovleva. 2-e izd., pererab. i dop. M.: «Litterra», 2015.
8. Yaminsky I. V., Demin V. V., Bondarenko V. M. Zhurn. mikrobiologii. – Journal of microbiology. 1997;6:15-18.
9. Binnig G., Quate C. F., Gerber Ch. Phys Rev Lett. 1986;6(59):930-933.
10. Bondareva N. I., Timchenko L. D., Rzhepakovsky I. V. Res. J. Pharm., Biol. Chem. Sci. (RJPBCS). 2016;7(6):1224-1230.
11. Finberg R. V., Moellering R. C., Tally F. P. Clin. Infect. Dis. 2004;(39):1314-1320.
12. Fuhrmann A., Ros R. Nanomedicine. 2010;5(4):657-665.
13. Fuchs P. C., Jones R. N., Thornsberry C., Barry A. L., Gerlach E. H., Sommers H. M. Antimicrob. Agents Chemother. 1981;20(6):747-759.
14. LeFrock J. L., Prince R. A., Leff R. D. Pharmacotherapy. 1982;2(4):174-184. doi: 10.1002/j.1875-9114.1982.tb03185
15. Martínez J. L., Baquero F. Ups. J. Med. Sci. 2014;119(2): 68-77. doi: 10.3109/03009734.2014.901444
16. Meyer R. L. Zhou X., Tang L. Ultramicroscopy. 2010;110(11):1349-1357. doi: 10.1016/j.ultramic.2010.06.010
17. Nikiyan A., Vasilchenko A., Deryabin D. Intern. J. Microbiol. 2010. doi:10.1155/2010/704170
18. Volle C. B., Ferguson M. A., Aidala K. E., Spain E. M., Nunez M. E. Coll. Surf. B Biointerfaces. 2008;67(1): 32-40.
19. Saranya S., Hemashenpagam N. Sci. Res. 2011;2(4): 528-534.
20. Smirnova M. V., Lubenko I. Yu. Intern. J. Antimicrobial Agents. 2007;29(2):165-169.

Сведения об авторах:

Батури́н Влади́мир Алекса́ндрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой клинической фармакологии с курсом ДПО, главный врач; тел.: (8652)713466; e-mail: prof.baturin@gmail.com

Селимов Магомед Асланович, кандидат технических наук, старший научный сотрудник НИЛ «Нанобиотехнология и биофизика»; тел.: 89288200432; e-mail: selimovma@mail.ru

Болатчиев Альберт Добаевич, аспирант; тел.: 89288205551; e-mail: alberto2604@gmail.com

Будкевич Роман Олегович, кандидат биологических наук, доцент, заведующий НИЛ «Нанобиотехнология и биофизика»; тел.: 89624452091; e-mail: budkev@mail.ru

Садовой Влади́мир Всеволо́дович, доктор технических наук, профессор кафедры технологии продуктов питания и товароведения; e-mail: vsadovoy@yandex.ru

Куница́на Елена Алексе́евна, врач-бактериолог; тел.: (8652)947231; e-mail: kynavi@mail.ru