

11. Ukhanova Yu. Yu. Kliniko-diagnosticheskoe i prognosticheskoe znachenie markerov biologicheskikh zhidkostey v otsenke riska proliferatsii miomy matki. Dissertatsiya kandidata meditsinskikh nauk [Clinical, diagnostic and prognostic significance of biological fluid markers in the assessment of the risk of uterine fibroids proliferation. Thesis of Candidate of Medical Sciences]. Kazan', 2016, 146 p.
12. Bossi F., Bernardi S., Zauli G., Secchiero P., Fabris B. TRAIL modulates the immune system and protects against the development of diabetes. *J. Immunol. Res.*, 2015, vol. 2015, Article ID 680749. doi: 10.1155/2015/680749.
13. Ciebiera M., Wlodarczyk M., Slabuszewska-Jozwiak A., Nowicka G., Jakiel G. Influence of vitamin D and transforming growth factor β 3 serum concentrations, obesity, and family history on the risk for uterine fibroids. *Fertil. Steril.*, 2016, vol. 106, no. 7, pp. 1787–1792. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.09.007.
14. Crujeiras A. B., Casanueva F. F. Obesity and the reproductive system disorders: epigenetics as a potential bridge. *Hum. Reprod. Update.*, 2014, vol. 21, no. 2, pp. 249–261. doi: 10.1093/humupd/dmu060.
15. Guelinckx I., Devlieger R., Beckers K., Vansant G. Maternal obesity: pregnancy complications, gestational weight gain and nutrition. *Obes. Rev.*, 2008, vol. 9, no. 2, pp. 140–150. doi: 10.1111/j.1467-789x.2007.00464.x.
16. Jungheim E. S., Travieso J. L., Carson K. R., Moley K. N. Obesity and Reproductive Function. *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.*, 2012, vol. 39, no. 4, pp. 479–493. doi: 10.1016/j.ogc.2012.09.002.
17. Miehle K., Holger S., Fasshauer M. Leptin, Adiponectin and other Adipokines in Gestational Diabetes Mellitus and Pre-eclampsia. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)*, 2012, vol. 76, no. 1, pp. 2–11.
18. Nair S., Al-Hendy A. Adipocytes enhance the proliferation of human leiomyoma cells via TNF- α proinflammatory cytokine. *Reprod. Sci.*, 2011, vol. 18, no. 12, pp. 1186–1192.
19. Parazzini F., Tozzi L., Bianchi S. Pregnancy outcome and uterine fibroids // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.*, 2016, vol. 34, pp. 74–84. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2015.11.017.
20. Stewart E. A., Cookson C. L., Gandolfo R. A., Schulze-Rath R. Epidemiology of uterine fibroids: a systematic review. *BJOG*, 2017, vol. 124, no. 10, pp. 1501–1512. doi: 10.1111/1471-0528.14640.

03.02.03 – Микробиология (медицинские науки)

УДК 579.843.1:57.083.13:612.392.45:612.074/077

DOI 10.17021/2021.16.1.73.82

© А.Б. Мазрухо, Д.И. Каминский, Д.В. Соков,
Л.М. Овсова, О.Г. Сокиркина, В.Д. Кругликов,
И.В. Архангельская, Д.А. Левченко, М.И. Ежова, 2021

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ХОЛЕРНОГО ВИБРИОНА «АРГИНИН-ЖЕЛЕЗО-САХАРОЗНЫЙ АГАР» ПРИ ПРОВЕДЕНИИ КЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ

Мазрухо Алексей Борисович, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории питательных сред, ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Россия, 344002, г. Ростов-на-Дону, ул. Горького, д. 117/40, тел.: 8-904-505-97-46, e-mail: alexey-mazrukho@rambler.ru.

Каминский Денис Игоревич, научный сотрудник лаборатории питательных сред, ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Россия, 344002, г. Ростов-на-Дону, ул. Горького, д. 117/40, тел.: (863) 244-69-52, e-mail: plague@aanet.ru.

Соков Дмитрий Владимирович, младший научный сотрудник лаборатории питательных сред, ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Россия, 344002, г. Ростов-на-Дону, ул. Горького, д. 117/40, тел.: (863) 244-69-52, e-mail: plague@aanet.ru.

Овсова Людмила Михайловна, лаборант лаборатории питательных сред, ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Россия, 344002, г. Ростов-на-Дону, ул. Горького, д. 117/40, тел.: (863) 244-69-52, e-mail: plague@aanet.ru.

Сокиркина Ольга Геннадьевна, лаборант лаборатории питательных сред, ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Россия, 344002, г. Ростов-на-Дону, ул. Горького, д. 117/40, тел.: (863) 244-69-52, e-mail: plague@aanet.ru.

Кругликов Владимир Дмитриевич, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологии холеры, ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Россия, 344002, г. Ростов-на-Дону, ул. Горького, д. 117/40, тел.: (863) 240-27-03, e-mail: plague@aanet.ru.

Архангельская Ирина Викторовна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории микробиологии холеры, ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Россия, 344002, г. Ростов-на-Дону, ул. Горького, д. 117/40, тел.: (863) 240-27-03, e-mail: plague@aaanet.ru.

Левченко Дарья Александровна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии холеры, ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Россия, 344002, г. Ростов-на-Дону, ул. Горького, д. 117/40, тел.: (863) 240-27-03, e-mail: plague@aaanet.ru.

Ежова Мария Ивановна, научный сотрудник лаборатории микробиологии холеры, ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Россия, 344002, г. Ростов-на-Дону, ул. Горького, д. 117/40, тел.: (863) 240-27-03, e-mail: plague@aaanet.ru.

Применяемые на IV–V этапах лабораторной диагностики холеры полиуглеводные питательные среды не позволяют дифференцировать отбираемые колонии холерного вибриона от близкородственных микроорганизмов, прежде всего, аэромонад. Это увеличивает объем исследований на последующем VI этапе. Предлагаемая питательная среда «Аргинин-железо-сахарозный агар» лишена этих недостатков. **Цель исследования** – проведение клинических испытаний и оценка эффективности сконструированной питательной среды «Аргинин-железо-сахарозный агар» в рамках процедуры государственной регистрации указанного медицинского изделия. **Материалы и методы.** В исследовании использованы 20 штаммов холерного вибриона, 4 штамма аэромонад, по одному штамму *E. coli* и *P. vulgaris*. Определяли биологические показатели «дифференцирующие свойства» и «стабильность свойств штаммов» на предлагаемой и контрольных средах. Кроме того, исследованы 350 проб материала от людей и из объектов окружающей среды, контаминированных штаммами – целевыми аналитами. **Результаты и обсуждение.** В ходе клинических испытаний подтверждена высокая эффективность использования предлагаемой среды «Аргинин-железо-сахарозный агар» для первичной идентификации холерного вибриона и его дифференциации от аэромонад, кишечной палочки и протей. **Выводы.** 1. Впервые разработана питательная среда, позволяющая дифференцировать холерный вибрион от других микроорганизмов сразу по трем признакам – наличию способности ферментировать сахарозу, отсутствию дегидролазы аргинина и способности к образованию сероводорода. 2. Разработанная питательная среда «Аргинин-железо-сахарозный агар» является единственной из используемых в практике питательных сред для отбора подозрительных колоний, которая позволяет дифференцировать между собой холерные вибрионы и аэромонады. 3. Разработанная питательная среда эффективна при исследовании как клинического материала, так и материала из объектов окружающей среды. 4. Использование данной среды на IV и V этапах лабораторной диагностики холеры позволяет существенно сократить объем исследований на последующих этапах.

Ключевые слова: холерный вибрион, питательные среды, среды идентификации, клинические испытания.

STUDY OF THE EFFECTIVENESS OF THE NUTRIENT MEDIUM FOR IDENTIFICATION OF THE CHOLERA VIBRIO “ARGININE-IRON-SUCROSE AGAR” DURING ITS CLINICAL TRIALS

Mazrukho Aleksey B., Cand. Sci. (Med.), Leading researcher of laboratory, Rostov-on-Don Antiplague Institute, 117/40 Gorkogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russia, tel.: 8-904-505-97-46, e-mail: alexey-mazrukho@rambler.ru.

Kaminskiy Denis I., Researcher associate of the laboratory, Rostov-on-Don Antiplague Institute, 117/40 Gorkogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russia, tel.: (863) 244-69-52, e-mail: plague@aaanet.ru.

Sokov Dmitriy V., Junior Researcher of the laboratory, Rostov-on-Don Antiplague Institute, 117/40 Gorkogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russia, tel.: (863) 244-69-52, e-mail: plague@aaanet.ru.

Ovsova Lyudmila M., Laboratory assistant, Rostov-on-Don Antiplague Institute, 117/40 Gorkogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russia, tel.: (863) 244-69-52, e-mail: plague@aaanet.ru.

Sokirkina Olga G., Laboratory assistant, Rostov-on-Don Antiplague Institute, 117/40 Gorkogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russia, tel.: (863) 244-69-52, e-mail: plague@aaanet.ru.

Kruglikov Vladimir D., Dr. Sci (Med.), Leading researcher of laboratory, Rostov-on-Don Antiplague Institute, 117/40 Gorkogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russia, tel.: (863) 240-27-03, e-mail: plague@aaanet.ru.

Arkhangelskaya Irina V., Cand. Sci. (Med.), Researcher associate of the laboratory, Rostov-on-Don Antiplague Institute, 117/40 Gorkogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russia, tel.: (863) 240-27-03, e-mail: plague@aaanet.ru.

Levchenko Darya A., Cand. Sci. (Med.), Senior researcher at the laboratory, Rostov-on-Don Antiplague Institute, 117/40 Gorkogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russia, tel.: (863) 240-27-03, e-mail: plague@aaanet.ru.

Ezhova Mariya I., Researcher associate of the laboratory, Rostov-on-Don Antiplague Institute, 117/40 Gorkogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russia, tel.: (863) 240-27-03, e-mail: plague@aaanet.ru.

Poly-carbohydrate culture media used at the IV-V stages of laboratory diagnostics of cholera do not allow differentiating the selected colonies of *Vibrio cholerae* from closely related microorganisms, primarily aeromonads. This increases the amount of research in the subsequent VI stage. The proposed “Arginine-iron-sucrose agar” nutrient medium is devoid of these disadvantages. **The purpose of the study** is to conduct clinical trials and evaluate the effectiveness of the designed “Arginine-iron-sucrose agar” culture medium within the framework of the state registration procedure for the specified medical device. **Materials and methods.** The study used 20 strains of *V. cholerae*, 4 strains of *Aeromonas*, one strain of *E. coli* and *P. vulgaris* each. The biological parameters “differentiating properties” and “stability of strain properties” were determined on the proposed and control media. In addition, 350 samples of material from people and from environmental objects contaminated with target analyte strains were examined. **Results and discussion.** In the course of clinical trials, the high efficiency of the proposed nutrient medium for the primary identification of *Vibrio cholerae* and its differentiation from *Aeromonas*, *Escherichia coli* and *proteus* was confirmed. **Conclusions.** 1. For the first time, a nutrient medium has been developed that makes it possible to differentiate *Vibrio cholerae* from other microorganisms by three characteristics at once – the presence of the ability to ferment sucrose, the absence of arginine dehydrolase, and the absence of the ability to form hydrogen sulfide. 2. The developed “Arginine-iron-sucrose agar” nutrient medium is the only one used in practice for the selection of suspicious colonies, which makes it possible to differentiate between *Vibrio cholerae* and aeromonads. 3. The developed nutrient medium is effective in the study of both clinical material and material from environmental objects. 4. The use of this medium at the IV and V stages of laboratory diagnosis of cholera can significantly reduce the amount of research at subsequent stages.

Key words: cholera vibriion, nutrient media, identification media, clinical trials.

Введение. Одним из наиболее актуальных направлений совершенствования лабораторной диагностики холеры является ее оптимизация, направленная на сокращение используемых методических приемов, особенно дублирующих определение изучаемого признака [10]. Среди путей достижения указанной цели важное место занимает разработка и внедрение в практику диагностических питательных сред, которые, согласно общепринятой классификации по назначению [4], определены как «комбинированные». Данные среды позволяют изучать одновременно несколько признаков микроорганизмов – целевых аналитов.

Среды и микротест-системы, используемые в настоящее время для идентификации штаммов холерного вибриона, многообразны, обеспечивают изучение биохимических признаков, в том числе ферментацию углеводов и аминокислот [7, 16, 20]. В частности, на IV-м (отбор подозрительных на холерный вибрион колоний в посевах на плотные среды нативного материала, а также в высевах из 1-й и 2-й сред накопления) и V-м (отбор культур для проведения их идентификации) этапах лабораторной диагностики холеры на протяжении многих лет применяются полиуглеводные среды: лактозо-сахарозная, маннозо-сахарозная, а также среды Ресселя [19] и Клигlera [17]. В основе отбора подозрительных колоний с помощью этих сред для последующей идентификации лежит способность вибрионов ферментировать глюкозу и сахарозу со сдвигом pH среды в кислую сторону вследствие накопления молочной, янтарной и уксусной кислот [2] без газообразования, отсутствие способности к ферментации лактозы и к продукции сероводорода. Недостатком всех применяемых в лабораторной диагностике холеры полиуглеводных сред является отсутствие возможности дифференцировать с их помощью штаммы холерного вибриона от культур близкородственных глюкозо- и сахарозопозитивных микроорганизмов, прежде всего, представителей рода *Aeromonas* [12, 13, 14, 15, 18], которые широко распространены в воде поверхностных водоемов, сточных водах и донных отложениях [1, 3, 5, 8, 11]. Изложенное обстоятельство требует повторной идентификации отобранных со щелочного агара или среды TCBS подозрительных на холерный вибрион культур на последующих этапах лабораторной диагностики с помощью среды Меллера с аргинином. Таким образом, происходит увеличение объемов исследований на VI этапе лабораторной диагностики холеры.

В качестве альтернативы этой группе питательных сред, лишенной указанных недостатков, специалистами ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора была предложена питательная среда «Аргинин-железо-сахарозный агар» (АЖС-агар). Разработанная среда предназначена для идентификации холерного вибриона на IV и V этапах лабораторной диагностики холеры по признакам ферментации сахарозы, отсутствия дегидролазы аргинина и продукции сероводорода, что обеспечивает качественное определение *Vibrio cholerae* и его дифференциацию от сопутствующей микрофлоры (аэромонад, кишечной палочки и протей) в пробах из объектов окружающей среды и клинического материала.

АЖС-агар относится к изделиям медицинского назначения для использования *in vitro* лабораториями региональных центров гигиены и эпидемиологии, лабораториями лечебно-профилактических учреждений и лабораториями учреждений федерального уровня, в том числе противочумными учреждениями, имеющими санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с патогенными биологическими агентами (ПБА) II группы патогенности.

Принцип действия среды основан на выявлении способности *Vibrio cholerae* ферментировать сахарозу с образованием кислых продуктов жизнедеятельности, отсутствии способности к ферментации аргинина и продукции сероводорода; выявлении способности *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae*, *Aeromonas veronii* ферментировать сахарозу с образованием кислых продуктов и аргинин с образованием щелочных продуктов; выявлении отсутствия способности *Escherichia coli* ферментировать сахарозу и аргинин, образовывать сероводород; выявлении способности *Proteus vulgaris* ферментировать сахарозу с образованием кислых продуктов жизнедеятельности и образовывать сероводород, а также отсутствию способности ферментировать аргинин.

Цель: провести клинические испытания и оценить эффективность сконструированной питательной среды «Аргинин-железо-сахарозный агар» в рамках процедуры государственной регистрации указанного медицинского изделия.

Материалы и методы исследования. Клинические испытания были проведены на базе аккредитованного испытательного центра ФГБУЗ «Головной центр гигиены и эпидемиологии Федерального медико-биологического агентства», а исследования с использованием токсигенных штаммов холерного вибриона, относящихся к ПБА II группы – на базе ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора.

Для проведения клинических испытаний разработанной питательной среды АЖС-агар в качестве целевых анализатов были использованы штаммы микроорганизмов из коллекции Музея живых культур ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора (табл. 1).

Таблица 1

Перечень штаммов микроорганизмов для проведения клинических испытаний среды АЖС-агар

Наименование штамма	Источник, место и год выделения
1	2
<i>V. cholerae</i> O1 classical Inaba P-1 (145) (1391) – тест-штамм (токсигенный штамм)	Неизвестен
<i>V. cholerae</i> O1 El Tor Inaba M878 (12214) – тест-штамм (токсигенный штамм)	Неизвестен
<i>V. cholerae</i> O1 El Tor Ogawa 18983	Вода, г. Сочи, устье реки Мацеста, 2007
<i>V. cholerae</i> O1 El Tor Ogawa 18984	Вода, г. Сочи, р. Агура, 2007
<i>V. cholerae</i> O1 El Tor Ogawa P-19764	Вода, г. Ростов-на-Дону, Державинский спуск, правый берег р. Дон, 2015
<i>V. cholerae</i> O1 El Tor Ogawa 19813	Человек, Украина, Донецкая область, г. Мариуполь, 1998
<i>V. cholerae</i> O1 El Tor Ogawa 19923 (токсигенный штамм)	Вода, г. Ростов-на-Дону, р. Темерник, 2016
<i>V. cholerae</i> O1 El Tor Ogawa P-19925	Вода, г. Ростов-на-Дону, р. Темерник, 2016
<i>V. cholerae</i> O1 El Tor Ogawa 18119	Вода, г. Волгоград, пруд дачного массива, 1999
<i>V. cholerae</i> O1 El Tor Ogawa 18544	Человек, испражнения, Республика Калмыкия, с. Яшкуль, 2002
<i>V. cholerae</i> O1 El Tor Ogawa P-19433	Вода (морская), г. Новороссийск, Черное море, Лиман на Суджукской косе, 2013
<i>V. cholerae</i> O1 El Tor Ogawa 2931	Вода, Республика Калмыкия, г. Элиста, пруд Колонский, 2019
<i>V. cholerae</i> O1 El Tor Ogawa 2770	Вода, Республика Калмыкия, г. Элиста, пруд Заячий, 2019
<i>V. cholerae</i> O1 El Tor Ogawa 3225	Вода, Республика Калмыкия, г. Элиста, пруд Колонский, 2019
<i>V. cholerae</i> O1 El Tor Ogawa 2932	Вода, Республика Калмыкия, г. Элиста, пруд Заячий, 2019
<i>V. cholerae</i> O139 MO45 (16077) – тест-штамм (токсигенный штамм)	Вода, Индия, поверхностный водоем, 1991
<i>V. cholerae</i> O139 17788	Вода, Новосибирская область, р. Обь, р-н Ягодная, 1998
<i>V. cholerae</i> O139 16064 (токсигенный штамм)	Человек, испражнения, г. Ростов-на-Дону, 1991
<i>V. cholerae</i> O139 17919	Вода, г. Ростов-на-Дону, р. Дон, 1999
<i>V. cholerae</i> non O1/ non O139 P-9741 – тест-штамм	Вода, г. Ростов-на-Дону, р. Махино, 1972
<i>A. hydrophila</i> P-6052 – тест-штамм	Человек, испражнения, г. Ростов-на-Дону, 1972
<i>A. caviae</i> P-6051	Человек, испражнения, г. Ростов-на-Дону, 1972

1	2
<i>A. veronii</i> P-6096	Вода (морская), г. Керчь, 1971
<i>A. caviae</i> P-6048	Молоко, г. Сочи, 1972
<i>E. coli</i> 18 (1015)	Человек, место выделения неизвестно, 1943
<i>P. vulgaris</i> HX 19 N 222 (12932)	Человек, место выделения неизвестно, 1943

Хранение и подготовку штаммов холерного вибриона, кишечной палочки и протей осуществляли в соответствии с требованиями МУ 3.3.2.2124-06 «Контроль диагностических питательных сред по биологическим показателям для возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза, легионеллеза» [6] и МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред» [9]. Подготовку штаммов аэромонад проводили аналогично холерным вибрионам.

Клинические испытания выполнены в лабораторных условиях с применением образцов: проб клинического материала и объектов окружающей среды, искусственно контаминированных штаммами холерного вибриона ввиду отсутствия случаев заболевания холерой на территории России и тест-штаммами аэромонад, кишечной палочки и протей. Для контаминации проб из 20 использованных в испытаниях штаммов *V. cholerae* были выбраны два штамма холерного вибриона *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa 18544 и *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa 2931, так как они обладают генетическими и фенотипическими характеристиками, свойственными большинству штаммов возбудителя холеры, изолируемых в последние годы от людей и из объектов окружающей среды. В микробную смесь, которой контаминировали пробы, каждый из штаммов вносили в концентрации 10^4 микробных клеток на 1,0 мл смеси. В ходе клинических испытаний проведено исследование 350 образцов испражнений, рвотных масс, воды поверхностных водоемов, стоков и водопроводной воды, контаминированных указанной смесью микроорганизмов (табл. 2).

Таблица 2

Анализируемые в ходе клинических испытаний образцы и их происхождение

Анализируемый образец	Происхождение анализируемого образца			
	Прямой посев на щелочной агар	Пассажи через среду обогащения (основной пептон, 1 % пептонная вода)	Исследуемый материал	Количество образцов
Колонии микроорганизмов, подозрительные на принадлежность к виду <i>V. cholerae</i>	+	нет	Испражнения	50
	+	+	Испражнения	50
	+	нет	Рвотные массы	50
	+	+	Рвотные массы	50
	+	+	Вода поверхностных водоемов	25
	+	+	Вода поверхностных водоемов	25
	+	нет	Хозяйственно-бытовая сточная вода	25
	+	+	Хозяйственно-бытовая сточная вода	25
	+	нет	Водопроводная вода	25
	+	+	Водопроводная вода	25
Всего образцов				350

Тип анализируемого образца в ходе клинических испытаний – колонии микроорганизмов, подозрительные на принадлежность к виду *V. cholerae*, выросшие на щелочном агаре в результате посева на него контаминированных смесью микроорганизмов – целевых аналитов проб клинического материала (испражнений, рвотных масс) и объектов окружающей среды (вода поверхностных водоемов, хозяйственно-бытовые сточные воды, водопроводная вода) в нативном (прямой посев пробы на щелочной агар) или обогащенном (прошедшие пассаж через среды обогащения – основной пептон и 1 % пептонную воду) вариантах.

Состав опытной среды АЖС-агар на 1,0 л среды (г/л): пептон ферментативный для бактериологических целей сухой – $1,0 \pm 0,02$; натрий хлористый – $5,0 \pm 0,50$; L-аргинин солянокислый – $13,0 \pm 0,30$; сахараза – $1,0 \pm 0,02$; натрий серноватисто-кислый – 5-водный $0,30 \pm 0,02$; соль закиси железа и аммония двойная сернокислая 6-водная (Соль Мора) – $0,20 \pm 0,01$; калий фосфорнокислый двузамещенный 3-водный – $0,30 \pm 0,01$; агар микробиологический – $12,0 \pm 1,0$; бромтимоловый синий водорастворимый – $0,08 \pm 0,001$; крезоловый красный водорастворимый – $0,015 \pm 0,001$; вода дистиллированная – до 1,0 литра.

В исследовании были использованы две серии разработанной питательной среды АЖС-агар: серия 4 и серия 5 в пределах срока годности на момент проведения испытаний.

В связи с тем, что медицинское изделие АЖС-агар для *in vitro* диагностики не имеет аналогов в мировой практике, в качестве контрольных сред использованы зарегистрированные в установленном порядке питательные среды для идентификации микроорганизмов по отдельным критериям, заложенным в испытываемой среде:

- для идентификации по признаку ферментации сахарозы – Питательная среда для идентификации энтеробактерий сухая (Среда Гисса-ГРМ с сахарозой) производства Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, п. Оболенск, выпускаемая по ТУ 9398-049-78095326-2008, РУ № ФСР 2008/03494 от 13.10.2011 г., серия 018-К-2, дата изготовления 19.06.2019 г., срок годности до 06.2021 г.;

- для идентификации по признаку ферментации аргинина – Декарбоксилазный бульон Меллера (с аргинином) («HiMedia Ltd», Индия), каталожный номер M689-100G, РУ № ФСЗ 2009/03705 от 21.12.2012 г., серия 0000371105, срок годности 31.12.2023 г.

Сравнение разработанной и референтных питательных сред проводили по ключевым показателям: «дифференцирующие свойства» и «стабильность свойств использованных штаммов», а также при исследовании образцов проб клинического материала и проб из объектов окружающей среды.

Результаты исследования и их обсуждение. Результаты сравнительного изучения испытываемого медицинского изделия АЖС-агар с референтными питательными средами по биологическому показателю «дифференцирующие свойства» с использованием набора коллекционных штаммов микроорганизмов – целевых аналитов (табл. 3) убедительно продемонстрировали возможность дифференциации холерного вибриона от аэромонад, кишечной палочки и вульгарного протея, а также всех указанных микроорганизмов друг от друга сразу по трем биохимическим тестам с помощью опытной среды.

Таблица 3

Результаты сравнения испытываемого медицинского изделия АЖС-агар с референтными питательными средами при исследовании показателя «дифференцирующие свойства» с использованием набора коллекционных штаммов микроорганизмов – целевых аналитов

Штаммы	Показатель «Дифференцирующие свойства сред»			
	Испытуемая среда		Контрольная среда 1 (сахароза)	Контрольная среда 2 (аргинин)
	Серия 4	Серия 5		
	цвет столбика / скошенной части (механизм изменения цвета)	цвет столбика / скошенной части (механизм изменения цвета)	цвет среды (механизм изменения цвета)	цвет среды (механизм изменения цвета)
1	2	3	4	5
<i>V. cholerae</i> 20 штаммов	желтый / желтый (сахароза+; аргинин-; H ₂ S-)	желтый / желтый (сахароза+; аргинин-; H ₂ S-)	желтый (сахароза+)	желтый (аргинин-)
<i>A. hydrophila</i> 1 штамм	синий / синий (сахароза+; аргинин+; H ₂ S-)	синий / синий (сахароза+; аргинин+; H ₂ S-)	желтый (сахароза+)	сиренево-фиолетовый (аргинин+)
<i>A. caviae</i> 2 штамма	синий / синий (сахароза+; аргинин+; H ₂ S-)	синий / синий (сахароза+; аргинин+; H ₂ S-)	желтый (сахароза+)	сиренево-фиолетовый (аргинин+)

1	2	3	4	5
<i>A. veronii</i> 1 штамм	синий / синий (сахароза+; аргинин+; H ₂ S-)	синий / синий (сахароза+; аргинин+; H ₂ S-)	желтый (сахароза+)	сиренево-фиолетовый (аргинин+)
<i>E. coli</i> 1 штамм	зеленый / зеленый (сахароза-; аргинин-; H ₂ S-)	зеленый / зеленый (сахароза-; аргинин-; H ₂ S-)	сиреневый (сахароза-)	желтый (аргинин-)
<i>P. vulgaris</i> 1 штамм	желтый с черным кольцом преципитата / желтый (сахароза+; аргинин-; H ₂ S+)	желтый с черным кольцом преципитата / желтый (сахароза+; аргинин-; H ₂ S+)	желтый (сахароза+)	желтый (аргинин-)

Референтные среды не позволяют дифференцировать все четыре микроорганизма между собой и могут быть использованы для идентификации холерного вибриона только в комплексе с другими средами «цветного ряда», так как в основу механизма их действия заложен лишь один биохимический признак. Вместе с тем выбор их в качестве контрольных сред при проведении клинических испытаний был оправдан возможностью оценки исследуемых микроорганизмов отдельно по каждому из двух критериев, заложенных в основу действия разработанной питательной среды АЖС-агар.

При проведении данного этапа испытаний выяснено, что все взятые в работу штаммы *V. cholerae* при их культивировании в АЖС-агаре в течение 18–24 ч при 37° С вызывали закисление скошенной части среды и столбика (в пробирке), что проявлялось в изменении цвета каждой части среды от исходного зеленого к желтому без образования черного преципитата сульфида железа. Это связано с типичными биохимическими признаками холерного вибриона: способностью к ферментации сахарозы с образованием кислоты без газа, отсутствием фермента дегидролазы аргинина и отсутствием способности к продукции сероводорода. Штаммы аэромонад, хотя и обладают способностью к ферментации сахарозы, но доминирующим с 10 часа культивирования в АЖС-агаре становится эффект накопления щелочных продуктов за счет ферментации аргинина. Это приводит к изменению цвета столбика и скошенной части среды от зеленого к синему. У кишечной палочки отсутствуют все три биохимические активности, поэтому при ее культивировании цвет опытной среды не меняется. Вульгарный протей способен ферментировать сахарозу и образовывать сероводород, что проявляется в пожелтении скошенной части и столбика среды, при этом в столбике формируется черное кольцо преципитата сульфида железа за счет продукции сероводорода. Указанные нормативы оценки питательной среды АЖС-агара по показателю «дифференцирующие свойства» в отношении каждого из четырех микроорганизмов – целевых аналитов заложены в нормативный (ТУ 20.59.52-001-01898316-2019) и эксплуатационный (инструкция по применению) документы на среду и ранее неоднократно подтверждались в ходе авторских, межлабораторных, квалификационных, технических испытаний, испытаний специфичности, воспроизводимости и предрегистрационной валидации разработанной среды.

Биологические свойства всех использованных в исследовании штаммов микроорганизмов были стабильны как на опытной, так и на обеих контрольных средах.

Результаты исследования контаминированных смесью микроорганизмов – целевых аналитов образцов клинического материала и объектов окружающей среды свидетельствуют о том, что 100 % колоний, отобранных со щелочного агара как после прямого посева на него проб, так и посева после пассажа через среды обогащения, были идентифицированы с помощью опытной среды в соответствии с таксономическим положением сформировавших их микроорганизмов. При использовании контрольных сред достоверно идентифицировать выросшие на щелочном агаре колонии микроорганизмов можно было только при сопоставлении результатов посева в обе референтные среды. Каждая референтная среда в отдельности не позволяла этого сделать, так как в основу механизма их действия заложен только один биохимический признак.

Таким образом, проведенные клинические испытания разработанного медицинского изделия АЖС-агар позволяют утверждать, что данная среда может быть эффективно использована с целью отбора подозрительных колоний со щелочного агара и культур для последующей идентификации в ходе лабораторной диагностики холеры. Кроме того, АЖС-агар является единственной из предложенных до настоящего времени питательных сред, позволяющих уже на этапе отбора подозрительных колоний дифференцировать близкородственные микроорганизмы – холерный вибрион и аэромонады.

Сконструированная питательная среда АЖС-агар успешно прошла процедуру государственной регистрации в качестве изделия медицинского назначения. Получено регистрационное удостоверение от 03.06.2020 г. № РЗН 2020/10543. Приказом Росздравнадзора от 03.06.2020 г. № 4635 питательная среда АЖС-агар допущена к обращению на территории Российской Федерации.

Выводы.

1. Впервые разработана питательная среда, которая позволяет дифференцировать холерный вибрион от других микроорганизмов сразу по трем признакам – наличию способности ферментировать сахарозу, отсутствию дегидролазы аргинина и способности к образованию сероводорода.
2. Разработанная питательная среда «Аргинин-железо-сахарозный агар» является единственной из используемых в практике питательных сред для отбора подозрительных колоний, позволяющей дифференцировать между собой холерные вибрионы и аэромонады.
3. Разработанная питательная среда эффективна при исследовании как клинического материала, так и материала из объектов окружающей среды.
4. Использование данной среды на IV и V этапах лабораторной диагностики холеры позволяет существенно сократить объем исследований на последующих этапах.

Список литературы

1. Авдеева, Е. В. Мониторинг состояния европейского угля *Angullia angullia* L. Вислинского (Калининградского) залива по бактериологическим параметрам / Е. В. Авдеева, О. В. Казимирченко // *Фундаментальные исследования*. – 2005. – № 8. – С. 50–51.
2. Адамов, А. К. Холерные вибрионы / А. К. Адамов, М. С. Наумшина. – Саратов : Издательство Саратовского университета, 1984. – 328 с.
3. Березняк, Е. А. Распространенность и антибиотикорезистентность условно-патогенных микроорганизмов в водоемах г. Ростова-на-Дону / Е. А. Березняк, А. В. Тришина, Л. М. Веркина, М. В. Полева // *Здоровье населения и среда обитания*. – 2018. – № 2. – С. 41–43.
4. Дятлов, И. А. Питательные среды для выделения, культивирования и идентификации возбудителей особо опасных инфекций бактериальной природы / И. А. Дятлов, В. В. Кутырев, М. В. Храмов. – М. : Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», 2012. – 415 с.
5. Катаева, Л. В. К вопросу распространения бактерий рода *Aeromonas* в объектах окружающей среды и клинического материала / Л. В. Катаева, Т. Ф. Степанова, О. В. Посоюзных, В. В. Ташланова, Н. Ф. Карпухина, О. Н. Колотова // *Здоровье населения и среда обитания*. – 2018. – № 3. – С. 54–57.
6. Контроль диагностических питательных сред по биологическим показателям для возбудителя чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза, легионеллеза: МУ 3.3.2.2124-06. – М., 2007. – 35 с.
7. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней : практическое руководство / Г. Г. Онищенко, В. В. Кутырев. – М. : ЗАО «ШИКО», 2013. – 560 с.
8. Меньшикова, Е. А. Количественные и качественные изменения микробиоценоза водоемов г. Ростова-на-Дону в течение года / Е. А. Меньшикова, Е. М. Курбатова, Д. А. Левченко, И. В. Архангельская, М. М. Сагакянц, В. Д. Кругликов, С. В. Титова // *Холера и патогенные для человека вибрионы* : сб. ст. Проблемной комиссии (48.04) Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации. Вып. 31. Ростов-на-Дону. 2018. – Саратов : Амирит, 2018. – С. 86–89.
9. Методы контроля бактериологических питательных сред : методические указания МУК 4.2.2316-08. – М. : Федеральный центр гигиены и эпидемиологии, 2008. – 67 с.
10. Онищенко, Г. Г. Актуальные проблемы эпидемиологического надзора, лабораторной диагностики и профилактики холеры в Российской Федерации / Г. Г. Онищенко, А. Ю. Попова, В. В. Кутырев, Н. И. Смирнова, С. А. Щербакова, Э. А. Москвитина, С. В. Титова // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. – 2016. – № 1. – С. 89–101.
11. Хаффарецсас, Я. Бактерии рода *Aeromonas* / Я. Хаффарецсас // *Вестник Совета молодых ученых и специалистов Челябинской области*. – 2017. – Т. 3, № 2. – С. 80–83.
12. Abbott, S. L. The Genus *Aeromonas* : Biochemical Characteristics, Atypical Reactions, and Phenotypic Identification Schemes / S. L. Abbott, W. K. W. Cheung, J. M. Janda // *J. Clin. Microbiol.* – 2003. – Vol. 41, № 6. – P. 2348–2357.
13. Bonev, S. I. Comparative Study of Media for Determination of Lysine Decarboxylase Activity / S. I. Bonev, Z. Zakhariyev, P. Gentchev // *Appl. Microbiol.* – 1974. – Vol. 27, № 3. – P. 464–468.
14. Erdem, B. Biochemical identification and numerical taxonomy of *Aeromonas* spp. isolated from food samples in Turkey / B. Erdem, E. Kariptas, E. Cil, K. Isik // *Turk. J. Biol.* – 2011. – Vol. 35, № 1. – P. 463–472.
15. Janda, J. M. The Genus *Aeromonas* : Taxonomy, Pathogenicity, and Infection / J. M. Janda, S. L. Abbott // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2010. – Vol. 23, № 1. – P. 35–73.
16. Kaper, J. B. Cholera / J. B. Kaper, J. G. Morris, M. M. Levin // *Clin. Microbiol. Rev.* – 1995. – Vol. 8, № 1. – P. 48–86.

17. Kligler, I. J. A simple medium for the differentiation of members of the typhoid-paratyphoid group / I. J. Kligler // *Am. J. Public Health.* – 1917. – Vol. 7, № 12. – P. 1042–1044.
18. Pazzaglia, G. High Frequency of Coinfecting Enteropathogens in Aeromonas-Associated Diarrhea of Hospitalized Peruvian Infants / G. Pazzaglia, R. B. Sack, E. Salazar, A. Yi, E. Chea, R. Leon-Barua, C. E. Guerrero, J. Palomino // *J. Clin. Microbiol.* – 1991. – Vol. 29, № 6. – P. 1151–1156.
19. Russel, F. F. / The isolation of typhoid bacilli from urine and feces with the description of a new double sugar tube medium / F. F. Russel // *J. Med. Res.* – 1911. – Vol. 25, № 1. – P. 217–229.
20. Thompson, F. L. Biodiversity of Vibrios / F. L. Thompson, T. Iida, J. Swings // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 2004. – Vol. 68, № 3. – P. 403–431.

References

1. Avdeeva E. V., Kazimirchenko O. V. Monitoring sostoyaniya evropeyskogo ugrya Angullia angullia L. Vislinskogo (Kaliningradskogo) zaliva po bakteriologicheskim parametram [Monitoring the state of the European eel Angullia angullia L. Vislinsky (Kaliningrad) Bay by bacteriological parameters]. *Fundamental'nye issledovaniya* [Basic research], 2005, no. 8, pp. 50–51.
2. Adamov A. K., Naumshina M. S. Kholernye vibriony [Cholera vibrios]. Saratov, Publishing House of Saratov University, 1984, 328 p.
3. Bereznyak E. A., Trishina A. V., Verkina L. M., Poleeva M. V. Rasprostranennost' i antibiotikorezistentnost' uslovno-patogennykh mikroorganizmov v vodoemakh g. Rostova-na-Donu [Prevalence and antibiotic resistance of conditionally pathogenic microorganisms in the reservoirs of Rostov-on-Don]. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya* [Public Health and Life Environment], 2018, no. 2, pp. 41–43.
4. Dyatlov I. A., Kutyrev V. V., Khramov M. V. Pitatel'nye sredy dlya vydeleniya, kul'tivirovaniya i identifikatsii vozbuditeley osobo opasnykh infektsiy bakterial'noy prirody [Nutrient media for the isolation, cultivation and identification of pathogens of especially dangerous infections of bacterial nature]. Moscow, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor, Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, 2012, 415 p.
5. Kataeva L. V., Stepanova T. F., Posoyuznykh O. V., Tashlanova V. V., Karpukhina N. F., Kolotova O. N. K voprosu rasprostraneniya bakteriy roda Aeromonas v ob'ektakh okruzhayushchey sredy i klinicheskogo materiala [On the issue of the distribution of bacteria of the genus Aeromonas in objects of the environment and clinical material]. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya* [Public Health and Life Environment], 2018, no. 3, pp. 54–57.
6. Kontrol' diagnosticheskikh pitatel'nykh sred po biologicheskim pokazatelyam dlya vozbuditelya chumy, kholery, sibirskoy yazvy, tulyaremii, brutselleza, legionelleza: MU 3.3.2.2124-06 [Control of diagnostic nutrients according to the causative agent of plague, cholera, anthrax, tularemia, brucellosis, legionellosis: MU 3.3.2.2124-06]. Moscow, 2007, 35 p.
7. Laboratornaya diagnostika opasnykh infektsionnykh bolezney: Prakticheskoe rukovodstvo [Laboratory Diagnostics of Dangerous Infectious Diseases: A Practical Guide]. Ed. G. G. Onishchenko, V. V. Kutyrev. Moscow, ShIKO, 2013, 560 p.
8. Men'shikova E. A., Kurbatova E. M., Levchenko D. A., Arkhangel'skaya I. V., Sagakyants M. M., Kruglikov V. D., Titova S. V. Kolichestvennyye i kachestvennyye izmeneniya mikrobiotsenoza vodoemov g. Rostova-na-Donu v techenie goda [Quantitative and qualitative changes in the microbiocenosis of reservoirs in Rostov-on-Don during the year]. *Kholera i patogennyye dlya cheloveka vibriony : sbornik statey Problemnoy komissii (48.04) Koordinatsionnogo nauchnogo soveta po sanitarno-epidemiologicheskoy okhrane territorii Rossiyskoy Federatsii. Vypusk 31.* [Cholera and vibrios pathogenic for humans: a collection of articles of the Problem Commission (48.04) of the Coordinating Scientific Council for the Sanitary and Epidemiological Protection of the Territory of the Russian Federation. Issue 31. Rostov-on-Don 2018]. Saratov, Amirit, 2018, pp. 86–89.
9. Metody kontrolya bakteriologicheskikh pitatel'nykh sred. Metodicheskie ukazaniya MUK 4.2.2316-08 [Methods of bacteriological nutrient media control. Methodological Guidelines MUK 4.2.2316-08]. Moscow, Federal'nyy tsentr gigeny i epidemiologii [Federal Center for Hygiene and Epidemiology], 2008, 67 p.
10. Onishchenko G. G., Popova A. Yu., Kutyrev V. V., Smirnova N. I., Shcherbakova S. A., Moskvitina E. A., Titova S. V. Aktual'nye problemy epidemiologicheskogo nadzora, laboratornoy diagnostiki i profilaktiki kholery v rossiyskoy Federatsii [Actual problems of epidemiologic control, laboratory diagnostics and prophylaxis of cholera in russian federation]. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii, i immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology], 2016, no. 1, pp. 89–101.
11. Khaffaressas Ya. Bakterii roda Aeromonas [Bacteria of the genus Aeromonas]. *Vestnik Soveta molodykh uchenykh i spetsialistov Chelyabinskoy oblasti* [Bulletin of the Council of Young Scientists and Specialists of the Chelyabinsk Region], 2017, vol. 3, no. 2, pp. 80–83.
12. Abbott S. L., Cheung W. K. W., Janda J. M. The Genus Aeromonas: Biochemical Characteristics, Atypical Reactions, and Phenotypic Identification Schemes. *J. Clin. Microbiol.*, 2003, vol. 41, no. 6, pp. 2348–2357.
13. Bonev S. I., Zakhariyev Z., Gentchev P. Comparative Study of Media for Determination of Lysine Decarboxylase Activity. *Appl. Microbiol.*, 1974, vol. 27, no. 3, pp. 464–468.

14. Erdem B., Kariptas E., Cil E., Isik K. Biochemical identification and numerical taxonomy of *Aeromonas* spp. isolated from food samples in Turkey. *Turk. J. Biol.*, 2011. vol. 35, no. 1, pp. 463–472.
15. Janda J. M., Abbott S. L. The Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2010, vol. 23, no. 1, pp. 35–73.
16. Kaper J. B., Morris J. G., Levin M. M. Cholera. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1995, vol. 8, no. 1, pp. 48–86.
17. Kligler I. J. A simple medium for the differentiation of members of the typhoid-paratyphoid group. *Am. J. Public Health*, 1917, vol. 7, no. 12, pp. 1042–1044.
18. Pazzaglia G., Sack R. B., Salazar E., Yi A., Chea E., Leon-Barua R., Guerrero C. E., Palomino J. High Frequency of Coinfecting Enteropathogens in *Aeromonas*-Associated Diarrhea of Hospitalized Peruvian Infants. *J. of Clin. Microbiol.*, 1991, vol. 29, no. 6, pp. 1151–1156.
19. Russel F. F. The isolation of typhoid bacilli from urine and feces with the description of a new double sugar tube medium. *J. Med. Res.*, 1911, vol. 25, no. 1, pp. 217–229.
20. Thompson F. L., Iida T., Swings J. Biodiversity of *Vibrios*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2004, vol. 68, no. 3, pp. 403–431.

14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология
(медицинские науки)

УДК 547.853.3:615.015

DOI 10.17021/2021.16.1.82.87

© А.А. Цибизова, А.Л. Ясенявская,

А.А. Озеров, М.А. Самокруева, И.Н. Тюренков, 2021

ОЦЕНКА ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ НОВОГО ПИРИМИДИНОВОГО ПРОИЗВОДНОГО¹

Цибизова Александра Александровна, кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121, тел.: 8-908-619-88-54, e-mail: sasha3633@yandex.ru.

Ясенявская Анна Леонидовна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121, тел.: 8-917-188-04-10, e-mail: yasen_9@mail.ru.

Озеров Александр Александрович, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической и токсикологической химии, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 400001, г. Волгоград, ул. Ким, д. 20, тел.: (8442) 94-39-00, e-mail: prof_ozegov@yahoo.com.

Самокруева Марина Александровна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121, тел.: 8-960-865-11-78, e-mail: ms1506@mail.ru.

Тюренков Иван Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент Российской академии наук, заведующий кафедрой фармакологии и фармации Института непрерывного медицинского и фармацевтического образования факультета усовершенствования врачей, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, д. 1, тел.: (8442) 97-81-80, e-mail: fibfuv@mail.ru.

Работа посвящена оценке острой токсичности пиримидинового соединения 3-(2-Бензилокси-2-оксоэтил)хиназолин-4(3H)-он (VMA-13-03) с целью определения возможности дальнейшего изучения его фармакологической активности. Исследование проводили на нелинейных крысах-самцах 3-месячного возраста. Животных разделили на группы: контрольная группа – особи, получавшие эквивалент дистиллированной воды; опытные группы – крысы, получавшие внутривенно изучаемое вещество в дозах 500, 1000, 2000

¹ Научная статья выполнена в рамках государственного задания Министерства здравоохранения РФ в части проведения НИР по теме «Поиск и разработка перспективных соединений с антибактериальной активностью среди производных пиримидина для создания лекарственных препаратов» 48.2-2021.