

к нитям фибрина, передаётся на волокна и распространяется по всему объёму сгустка. Наши результаты показывают, что в этом процессе важную роль играет тромбоцитарный интегрин α IIb β 3, чувствительный к ингибирующему действию пептида RGDS (см. рис. 2, В и табл. 1). Тот факт, что ингибирование связывания фибрина с интегрином α IIb β 3 не полностью подавляет контракцию, позволяет предположить, что фибрин связывается с тромбоцитами через другие рецепторы.

Вклад эритроцитов в контракцию сгустка крови может быть важен для динамики венозных тромбов, которые более богаты эритроцитами по сравнению с артериальными тромбами [4]. Снижение контракции за счёт присутствия эритроцитов в тромбах может привести к большему объёму тромбов и, как следствие, к обтурации сосудов [6].

ВЫВОДЫ

1. В совокупности полученные результаты показывают, что контракция сгустка крови — сложный многофакторный процесс, который существенно зависит от состава крови. Для понимания механизмов контракции сгустка важно отслеживать динамику процесса во времени.

2. Систематическое изучение контракции сгустка крови позволит понять, насколько этот процесс определяет размеры и свойства гемостатических сгустков и тромбов *in vivo* и даст возможность в дальнейшем разработать новые профилактические, диагностические, прогностические и лечебные подходы.

Благодарности.

Работа выполнена в рамках программы

УДК 615.281: 612.086.3: 616-093-098 (470.41)

ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ЭФФЕКТА СЕЛИМАКЦИДА В ОТНОШЕНИИ САЛЬМОНЕЛЛ И ЭШЕРИХИЙ

Гульнара Харисовна Муртазина¹*, Марина Михайловна Сальникова²

¹Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия;

²Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, г. Казань, Россия

Поступила 24.06.2015; принята к печати 18.08.2015.

Реферат

Цель. Оценить влияния селимакцида на субмикроскопическую организацию сальмонелл и энтеропатогенных эшерихий.

Методы. В исследовании использовали изоляты *Salmonella enteritidis* и энтеропатогенные *Escherichia coli*. Их морфофункциональные особенности после воздействия селимакцида изучали методами негативного контрасти-

*повышения конкурентоспособности
Казанского (Приволжского) федерального
университета среди мировых научно-
образовательных центров.*

ЛИТЕРАТУРА

1. Balogh I., Hafizi S., Stenhoff J. et al. Analysis of Gas6 in human platelets and plasma. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005; 25: 1280–1286.

2. Cines D.B., Lebedeva T., Nagaswami C. et al. Clot contraction: Compression of erythrocytes into tightly packed polyhedra and redistribution of platelets and fibrin. *Blood.* 2014; 123: 1596–1603.

3. Fujimura K., Phillips D.R. Calcium cation regulation of glycoprotein IIb-IIIa complex formation in platelet plasma proteins. *J. Biol. Chem.* 1983; 258: 10247–10252.

4. Mackman N. Triggers, targets and treatments for thrombosis. *Nature.* 2008; 451: 914–918.

5. Mattheij N.J., Gilio K., van Kruchten R. et al. Dual mechanism of integrin α IIb β 3 closure in procoagulant platelets. *J. Biol. Chem.* 2013; 288: 13 325–13 336.

6. Quadras A.S., Cambuzzi E., Sebben J. et al. Red versus white thrombi in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention: Clinical and angiographic outcomes. *Am. Heart. J.* 2012; 164: 553–560.

7. Rooney M.M., Parise L.V., Lord S.T. Dissecting clot retraction and platelet aggregation clot retraction does not require an intact fibrinogen γ chain c terminus. *J. Biol. Chem.* 1996; 271: 8553–8555.

8. Stalker T.J., Welsh J.D., Tomaiuolo M. et al. A systems approach to hemostasis: 3. Thrombus consolidation regulated intrathrombus solute transport and local thrombin activity. *Blood.* 2014; 124: 1824–1831.

9. Soshitova N.P., Karamzin S.S., Balandina A.N. et al. Predicting prothrombotic tendencies in sepsis using spatial clot growth dynamics. *Blood. Coagul. Fibrinolysis.* 2012; 23: 498–507.

10. Weisel J.W., Litvinov R.I. Mechanisms of fibrin polymerization and clinical implications. *Blood.* 2013; 121: 1712–1719.

11. Zabczyk M., Sadowski M., Zalewski J., Undas A. Polyhydrocytes in intracoronary thrombi from patients with ST-elevation myocardial infarction. *Int. J. Cardiol.* 2015; 179: 186–187.

DOI: 10.17750/KMJ201677

рования и ультратонких срезов. Селимакцид брали в концентрациях 10, 15 и 25 мг/мл на изотоническом растворе натрия хлорида.

Результаты. Инкубация культур сальмонелл и эшерихий с селимакцидом не влияла на размеры клеток по сравнению с контролем. Ультраструктурная картина постантибактериального эффекта препарата селимакцид на клетках *Salmonella enteritidis* демонстрирует увеличение везикул внешней мембраны и изменения клеточной стенки, которые можно отнести к адапционным. В культуре *Escherichia coli* после выдерживания в среде, содержащей селимакцид в концентрации 25 мг/мл, отмечается наличие как повреждённых (с хлопьевидной цитоплазмой и разрывами плазматической мембраны), так и лизированных (отделяют своё содержимое в окружающую среду) клеток.

Вывод. Действие антибиотика селимакцида на клетки *Salmonella enteritidis* характеризуется увеличением везикул внешней мембраны и изменениями клеточной стенки; в культуре *Escherichia coli* после воздействия селимакцида отмечено наличие повреждённых и лизированных клеток.

Ключевые слова: ультраструктура, негативное контрастирование, селимакцид, сальмонеллы, эшерихии, клеточная стенка, нуклеоид.

ELECTRON MICROSCOPY STUDY OF ANTIBACTERIAL EFFECT OF SELIMAKCID AGAINST SALMONELLA AND ESCHERICHIA

G.Kh. Murtazina¹, M.M. Salmikova²

¹Kazan State Medical University, Kazan, Russia;

²Federal Toxicological, Radiation and Biological Safety Center, Kazan, Russia

Aim. To assess Selimakcid effect on the submicroscopic organization of *Salmonella* and enteropathogenic *Escherichia*.

Methods. *Salmonella enteritidis* and enteropathogenic *Escherichia coli* isolates were used in a study. Their morphological and functional characteristics after Selimakcid exposure were studied using methods of negative staining and ultrathin sections. Selimakcid was taken at 10, 15 and 25 mg/ml concentration in a physiological isotonic sodium chloride solution.

Results. Incubation of *Salmonella* and *Escherichia* cultures with Selimakcid has no effect on the cells size compared to the control. Ultrastructural picture of Selimakcid post antibiotic effect on the *Salmonella enteritidis* cells demonstrated the outer membrane vesicles increase and cell wall changes, which can be attributed to the adaptation. In the *Escherichia coli* culture after incubation in medium containing Selimakcid at 25 mg/ml concentration, the presence of both damaged (with flake-like cytoplasm and plasma membrane ruptures) and lysed (release their content into the environment) cells was observed.

Conclusion. The effect of Selimakcid on *Salmonella enteritidis* cells is characterized by the outer membrane vesicles increase and cell wall changes; in the *Escherichia coli* culture after Selimakcid exposure the presence of damaged and lysed cells was observed.

Keywords: ultrastructure, negative staining, Selimakcid, *Salmonella*, *Escherichia*, cell wall, nucleoid.

В настоящее время сложились отчётливые представления, свидетельствующие не только о положительном влиянии, но и о негативных воздействиях на организм большого многих применяемых в медицинской практике антибактериальных средств. К ним можно отнести развитие дисбиотических процессов в кишечнике, нарушение моторной и секреторной функций желудочно-кишечного тракта, задержку репарации слизистой оболочки кишечника, угнетение процессов иммуногенеза и др. [1, 3, 8, 10]. Выработка множественной лекарственной устойчивости бактерий к средствам этиотропной терапии, которая приводит к неэффективности лечения, диктует необходимость изыскания новых антимикробных препаратов [6, 11, 12].

На основании первичных исследований из 18 синтезированных сотрудниками Института органической и физической химии (ИОФХ) им. Арбузова сераорганических соединений нами была отобрана диэтиламмониевая соль N-метиламино-1-фенилметансульфоновой кислоты, названная условно селимакцид [4].

Результаты экспериментов с нашим участием показали, что селимакцид проявляет бактерицидную активность в кон-

центрации 6–10–15–20–25 мг/мл и выше, хламидиостатичность, не обладает мутагенным, цитогенетическим, эмбриотоксическим, тератогенным, гонадотоксическим действием. Антимикробная активность не менялась в кислой среде и была сопоставима/превышала бактерицидность некоторых традиционных антибактериальных средств, применяемых для этиотропной терапии острых кишечных инфекций. В экспериментальных условиях *in vivo* на модели сальмонеллёза у лабораторных животных селимакцид сохраняет свою антимикробную активность и предотвращает формирование бактерионосительства [7, 9].

Цель исследования заключалась в оценке ультраструктурной организации бактериальных клеток *Salmonella enteritidis* и *Escherichia coli* после воздействия на них препарата селимакцид.

В исследовании использовали изоляты *Salmonella enteritidis* и энтеропатогенные *Escherichia coli*. Селимакцид (диэтиламмониевую соль N-метиламино-1-фенилметансульфоновой кислоты) брали в концентрациях 10, 15 и 25 мг/мл на изотоническом растворе натрия хлорида.

Подготовка культуры. Для электронно-микроскопических исследований куль-

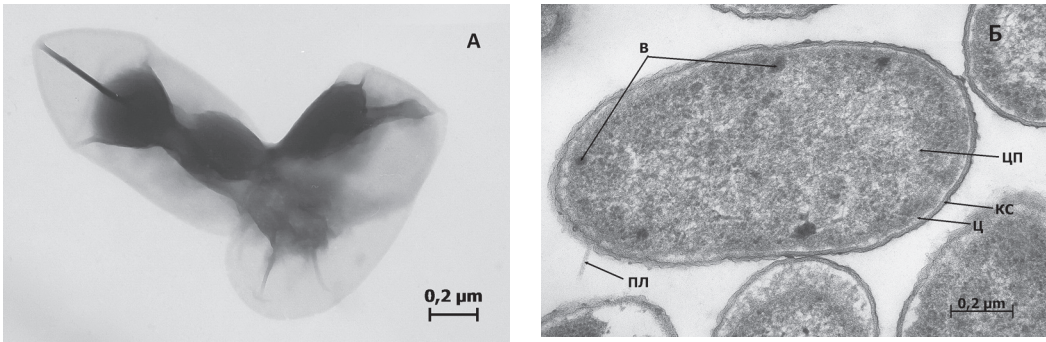


Рис. 1. Культура клеток *Salmonella enteritidis* без воздействия препарата: А – негативное контрастирование; Б – метод ультратонких срезов. ЦП – цитоплазма; КС – клеточная стенка; Ц – цитоплазматическая мембрана; В – включения цитоплазмы; ПЛ – пили; $\mu\text{м}$ – мкм

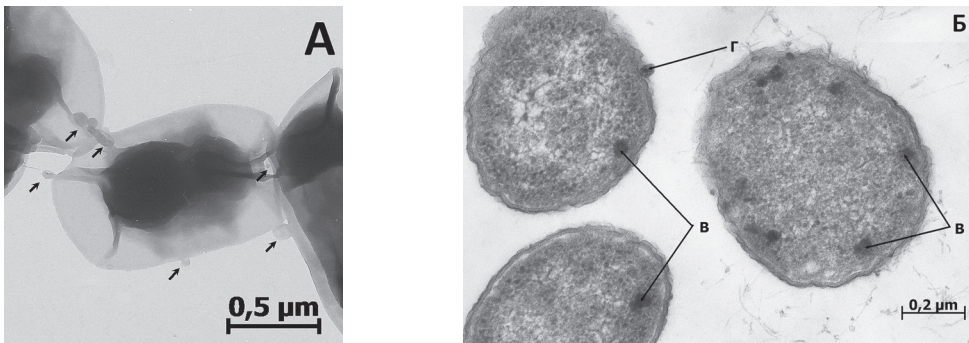


Рис. 2. Культура клеток *Salmonella enteritidis* без воздействия препарата: А – негативное контрастирование; Б – метод ультратонких срезов; В – включения цитоплазмы; Г – гранулы на поверхности клеточной стенки; стрелки показывают везикулы внешней мембраны; $\mu\text{м}$ – мкм

туру выращивали в течение суток на питательной среде (мясо-лептонном агаре). Бактериальную суспензию готовили на изотоническом растворе натрия хлорида в концентрации 2 млрд микробных клеток на 1 мл. Осадок культуры, полученный центрифугированием при 5000 об./мин в течение 15 мин, однократно промывали. Для изучения противомикробной активности к суспензии исходного штамма добавляли раствор селимакцида, по истечении 30 мин центрифугировали, осадок промывали изотоническим раствором натрия хлорида.

Метод негативного контрастирования. Каплю исследуемой бактериальной суспензии наносили на медные сетки, покрытые формваровой плёнкой, контрастировали 2% водным раствором уранилацетата 1 мин при комнатной температуре, промывали дистиллированной водой, просушивали, а затем просматривали на электронном микроскопе JEM 100CX-2.

Метод ультратонких срезов. Осадок культуры получали центрифугированием, заключали в агар. Кусочки заключённой

в агар культуры вырезали и фиксировали в эппендорфах с 1% раствором глутарового альдегида (SERVA, Германия) на 0,1 М фосфатном буфере (pH=7,4) в течение 12 ч в холодильнике [2]. Постфиксацию проводили в 2% растворе четырёхокси осмия (Московский химзавод) на том же буфере в течение 2 ч при комнатной температуре.

После дегидратации образцы заключали в смесь эпоновых (Epon-812, MNA, DDSA) смол (SERVA, Германия). Ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме LKB-3 и изучали в электронном микроскопе JEM 100CX-2 («Jeol», Japan). Съёмку проводили на плёнку AGFA ORTHOCHROMATIC. Для получения микрофотографий негативы сканировали на сканере EPSON PERFECTION 4990 PHOTO с разрешением 600 dpi.

Электронно-микроскопические исследования сальмонелл методом негативного контрастирования выявили шаровидную и палочковидную форму клеток, шириной 0,75 мкм и длиной 1,45 мкм. На снимках образцов *S. enteritidis* наблюдали отдельные клетки и их скопления, в которых

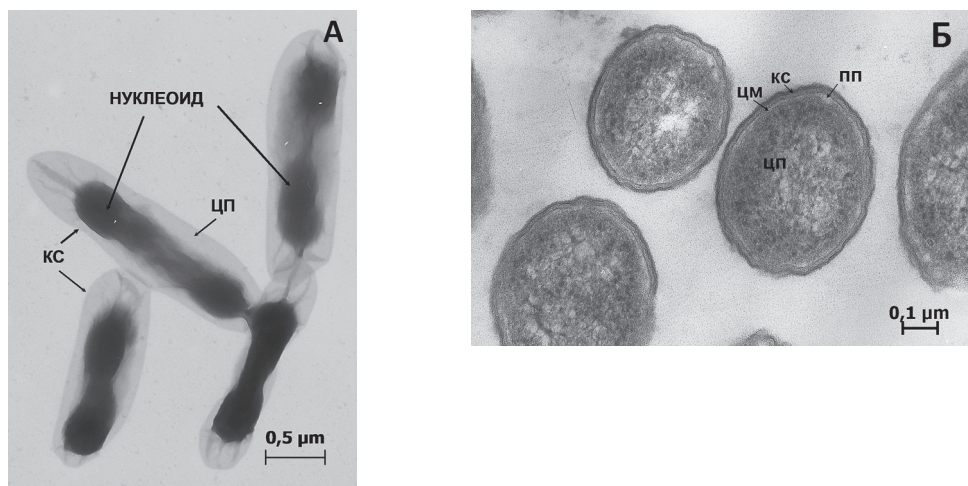


Рис. 3. Культура клеток *Escherichia coli* без воздействия препарата: А – негативное контрастирование; Б – метод ультратонких срезов. ЦП – цитоплазма; КС – клеточная стенка; ЦМ – цитоплазматическая мембрана; ПП – периплазматическое пространство; μm – мкм

микроорганизмы «прилипают» друг к другу. Клеточная стенка у большинства бактерий имеет ровную поверхность, на некоторых участках просматривается складчатость (рис. 1, А). Вокруг клеток или на клеточной стенке встречаются мембраноограниченные сферические везикулы размером 25–90 нм (рис. 2, А) с гомогенным электронно-светлым содержимым. Вероятно, эти везикулы образуются на внешней мембране клеточной стенки бактерий путём отшнуровывания части клеточного материала.

В околоклеточном пространстве регистрируются единичные жгутики. Внутреннее содержимое клетки заполнено веществом различной плотности. Область нуклеоида имеет более электронно-плотную структуру, чем гиалоплазма. Среди компонентов нуклеоида определяется округлый участок, характеризующийся высокой электронной плотностью, вероятно, аппарат репликации и транскрипции дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) [5]. На дистальных участках просматривается гомогенное электронно-светлое периплазматическое пространство. На снимках были обнаружены гантелевидные делящиеся бактерии, в которых хорошо просматривались перетяжки.

На ультратонких срезах бактерии имеют шаровидную или палочковидную форму. Вокруг клеток регистрируются везикулы внешней мембраны. На микрофотографиях хорошо просматриваются извилистая многослойная клеточная стенка и цитоплазматическая мембрана, которые окружают бактериальные клетки, харак-

терные для грамтрицательных микроорганизмов. На поверхности клеток, видны пили (рис. 1, Б), участки которых длиной до 15 нм изредка попадают на плоскость среза. В суточной культуре сальмонелл обнаруживались и единичные жгутики.

На наружной поверхности клеточной стенки выявлен аморфный материал средней электронной плотности, среди которого встречаются электронно-плотные гранулы размером от 17,5 до 40,0 нм (рис. 2, Б). Под наружной мембраной находится пластинчатый внутренний ригидный слой клеточной стенки, образованный пептидогликанами. Общая толщина слоёв клеточной стенки составляет от 17,5 до 23,0 нм (в среднем 20,9, $p < 0,05$).

Под клеточной стенкой располагается относительно ровная цитоплазматическая мембрана (7,5–8,5 нм), её контуры не повторяют извилистости наружной мембраны. Между клеточной стенкой и цитоплазмой имеется периплазматическое пространство. У некоторых клеток наблюдается примыкание цитоплазматической мембраны к клеточной стенке. У большинства клеток оно располагается тонкой ровной лентой либо образует расширения и заполнено электронно-прозрачным веществом.

Ультраструктура цитоплазмы бактерий *S. enteritidis* характеризуется высокой электронной плотностью и заполнена гранулярным компонентом – рибосомы, полирибосомы. Присутствуют электронно-плотные включения размером 30–60 нм и изредка округлые внутрицитоплазматические мембранные структуры. В области нуклеоида

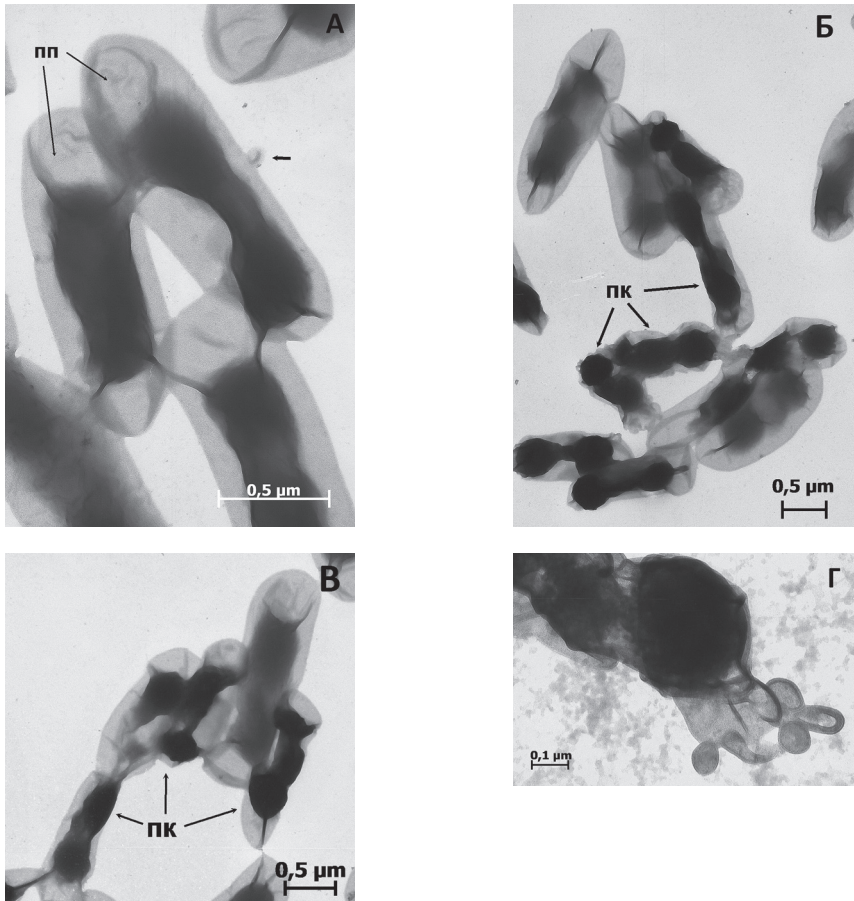


Рис. 4. Культура клеток *Escherichia coli* после воздействия селимакцида. Негативное контрастирование: А – влияние селимакцида в концентрации 10 мг/мл; Б – влияние селимакцида в концентрации 15 мг/мл; В, Г – влияние селимакцида в концентрации 25 мг/мл. ПП – периплазматическое пространство; ПК – повреждённые клетки; стрелка – везикулы внешней мембраны; μm – мкм.

нити ДНК не просматриваются.

При негативном контрастировании клетки *Escherichia coli* имеют палочковидную форму длиной от 1,41 до 4 мкм и шириной в среднем 0,5 мкм (рис. 3, А). На микроснимках образцов клетки образуют конгломераты, как и сальмонеллы. Клеточная стенка у большинства из них имеет ровную поверхность, на некоторых участках просматривается складчатость. Мембранограниченные сферические везикулы вокруг клеток встречаются очень редко, регистрируются единичные жгутики. Область нуклеоида и окружающей гиалоплазмы отличается высокой плотностью.

Электронно-микроскопические исследования образцов *Escherichia coli* по методу ультратонких срезов регистрировали сечения клеток шаровидной или палочковидной формы. На снимках обнаружены гантелевидные делящиеся бактерии. Везикулы

внешней мембраны размером 35–47 нм располагаются в непосредственной близости к поверхности клеточной стенки.

Ультратонкие исследования односуточной культуры *E. coli* выявили гладкую поверхность клеточной стенки, на которой регистрируются пили диаметром 9–11 нм и жгутики 22–24 нм. На срезах (рис. 3, Б) просматриваются немного извилистая многослойная клеточная стенка и плазматическая мембрана. Между клеточной стенкой и плазмалеммой имеется периплазматическое пространство. На наружной поверхности клеточной стенки выявлен аморфный материал более высокой плотности, чем у возбудителей сальмонеллёза.

Общая толщина слоёв клеточной стенки варьирует от 19,1 до 41,7 нм, среднее значение составляет 25,44 нм ($p < 0,05$), что превышает толщину клеточной стенки сальмонелл на 5,35 нм. Ультраструктура

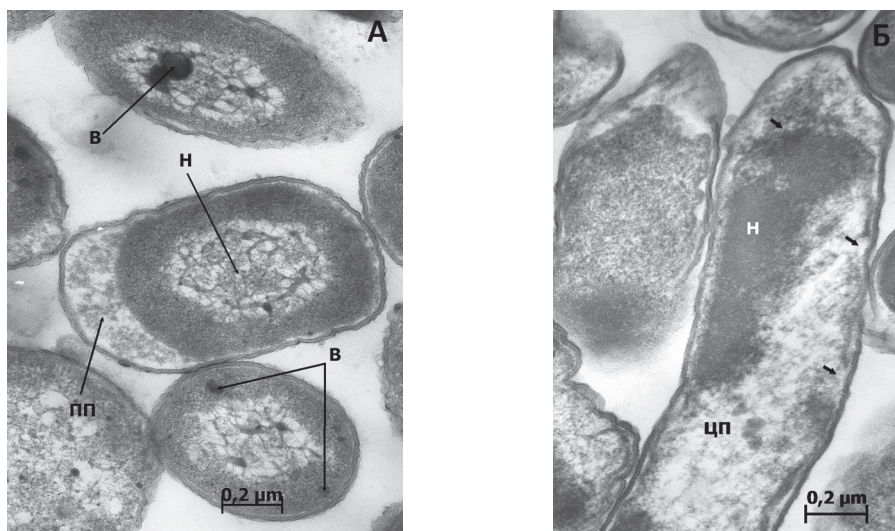


Рис. 5. Воздействие селимакцида в концентрации 25 мг/мл. Метод ультратонких срезов. А – *Salmonella enteritidis*; Б – *Escherichia coli*. ЦП – цитоплазма; ПП – периплазматическое пространство; Н – нуклеоид; В – осмиофильные включения; стрелки показывают разрывы цитоплазматической мембраны; μm – мкм.

цитоплазмы бактерий *Escherichia coli* характеризуется высокой электронной плотностью. Встречаются округлые гомогенные электронно-плотные включения размером до 80 нм, зона нуклеоида не просматривается, что характерно для клеток без нарушений в транспортных системах [5].

При воздействии селимакцида на *Escherichia coli* на микрофотографиях, полученных методом негативного контрастирования, в зависимости от концентрации препарата обнаруживаются клетки с различной степенью повреждения. После влияния селимакцида в концентрации 10 мг/мл большая часть клеток сохраняет палочковидную форму и прежние размеры (рис. 4, А). Вокруг некоторых бактерий обнаруживаются мембраноограниченные везикулы размером 50–100 нм. Отмечаются уплотнение области нуклеоида и цитоплазмы, увеличение периплазматического пространства, особенно в дистальных участках.

По мере увеличения концентрации селимакцида (15 и 25 мг/мл) увеличивается доля повреждённых клеток, которые внешне выглядят как сморщенные, они теряют свой объём за счёт резкого сокращения периплазматического пространства, вероятно, из-за дефектов клеточной стенки (рис. 4, Б, В). Границы клеток становятся неровными, цитоплазма и нуклеоид не дифференцируются, имеют высокую электронную плотность.

В культуре *Escherichia coli*, выдержанной

в среде, содержащей селимакцид в концентрации 25 мг/мл, кроме изменений, описанных выше, наблюдаются бактерии на стадии лизиса, которые теряют своё содержимое путём отделения клеточных частей, ограниченных мембранами, от клетки (рис. 4, Г).

Исследования методом ультратонких срезов *Salmonella enteritidis* и *Escherichia coli* после воздействия селимакцида в концентрации 25 мг/мл: после выдерживания культур сальмонелл и эшерихий в среде, содержащей селимакцид, размеры клеток по сравнению с контролем существенно не меняются. В культуре *Salmonella enteritidis* наблюдается увеличение количества везикул внешней мембраны. У эшерихий как в контроле, так и под воздействием антибактериального средства обнаруживаются только единичные везикулы внешней мембраны.

У клеток *Salmonella enteritidis* за счёт деструкции аморфного наружного слоя изменяется структура клеточной стенки, она становится тоньше, чем в норме (средняя толщина 16,4 нм, $p < 0,05$). Количество и размеры гранул на поверхности клеточной стенки – без изменений. У *Escherichia coli* размеры клеточной стенки под действием антибактериального препарата не меняются, она остаётся такой же плотности.

У обеих исследуемых культур по периферии цитоплазмы наблюдаются уплотнение мелкогранулярного компонента цитоплазмы и просветление в центральной части клетки, в области нуклеоида (рис. 5).

Отмечается увеличение количества плотных (осмиофильных) включений в области нуклеоида. Регистрируется расширение периплазматического пространства с дистальных сторон клеток, которое заполнено мелкогранулярным содержимым средней электронной плотности.

В культуре *Escherichia coli* часто обнаруживаются повреждённые клетки с хлопьевидной цитоплазмой и разрывами плазматической мембраны (см. рис. 5, Б). Регистрируются и лизированные клетки, которые распадаются на отдельные мембранограниченные и не ограниченные части. Среди культуры сальмонелл клетки с такой степенью повреждения не регистрируются (см. рис. 5, А).

ВЫВОДЫ

1. Ультраструктурная картина постантибиотического эффекта препарата селимакцид на клетках *Salmonella enteritidis* характеризуется увеличением везикул внешней мембраны и изменениями клеточной стенки, которые можно отнести к адаптационным.

2. В культуре *Escherichia coli* после выдерживания в среде, содержащей селимакцид, отмечается наличие как повреждённых (с хлопьевидной цитоплазмой и разрывами плазматической мембраны), так и лизированных (отделяют своё содержимое в окружающую среду) клеток.

3. Уплотнение цитоплазмы вокруг просветлённого нуклеоида и увеличение перинуклеарного пространства у сальмонелл и эшерихий, вероятно, связано с дисбалансом ионно-транспортных систем, диссоциацией рибосом, что приводит к нарушению белок-синтезирующего комплекса и дезориентации генетического аппарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бухарин О.В., Каган Ю.Д., Бурмистрова А.Л. *Сальмонеллы и сальмонеллёзы*. Екатеринбург: УрО РАН. 2000; 258 с. [Bukharin O.V., Kagan Yu.D., Burmistrova A.L. *Sal'monelly i sal'monellezy*. (Salmonella and salmonellosis.) Ekaterinburg: UrO RAN. 2000; 258 p. (In Russ.)]

2. Иванов А.В., Иванов А.А., Чернов А.Н. и др. *Методические рекомендации по электронно-микроскопическим исследованиям биологических объектов*. ФГБНУ «Росинформагротех». 2011; 67 с. [Ivanov A.V., Ivanov A.A., Chernov A.N. et al. *Metodicheskie rekomendatsii po*

elektronno-mikroskopicheskim issledovaniyam biologicheskikh ob'ektov. (Guidelines for electron microscopy studies of biological objects.) FGBNU «Rosinformagrotekh». 2011; 67 p. (In Russ.)]

3. *Инфекционные болезни: национальное руководство*. Под ред. Н.Д. Ющука, Ю.Я. Венгерова. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2009; 1040 с. [*Infektsionnye bolezni: natsional'noe rukovodstvo*. (Infectious diseases: national guideline.) Edited by N.D. Yushchuk, Yu.Ya. Vengerov. Moscow: GEOTAR-Media. 2009; 1040 p. (In Russ.)]

4. Кибардин А.М., Грязнов П.И., Лебедев С.Г. и др. *Диэтиламмониевая соль п-бензилденамино-1-фенилметансульфоновой кислоты, обладающая бактерицидной активностью, и способ её получения*. Патент на изобретение №2111962 от 21.05.1998. [Kibardin A.M., Gryaznov P.I., Lebedev S.G. et al. *Diethyl ammonium salt n-benzylidene amino-1-phenyl methane sulfonic acid having bactericidal activity and a method for its preparation*. Patent for invention №2111962 issued at 21.05.1998. (In Russ.)]

5. Ленгелер Й., Древе Г., Шлегель Г. *Общая микробиология: Прокариоты*. М.: Мир. 2012; 1: 656 с. [Lengeler Y., Dreves G., Shlegel' G. *Obshchaya mikrobiologiya: Prokarioty*. (General Microbiology: prokaryotes.) Moscow: Mir. 2012; 1: 656 p. (In Russ.)]

6. Лобзин Ю.В., Захаренко С.М. Этиотропная терапия кишечных инфекций. *Инфекц. бол.* 2009; 7 (3): 62–67. [Lobzin Yu.V., Zakharenko S.M. Etiotropic therapy of acute enteric infections. *Infektsionnye bolezni*. 2009; 7 (3): 62–67. (In Russ.)]

7. Макаев Х.Н., Равилов А.З., Муртазина Г.Х. и др. Новое противомикробное средство при респираторных и желудочно-кишечных заболеваниях. *Вет. врач.* 2000; (2): 24–26. [Makaev Kh.N., Ravilov A.Z., Murtazina G.Kh. et al. The new antimicrobial agent for respiratory and gastro-intestinal diseases. *Veterinarnyy vrach*. 2000; (2): 24–26. (In Russ.)]

8. Малеев В.В., Горелов А.В., Усенко Д.В., Кулешов К.В. Актуальные проблемы, итоги и перспективы изучения острых кишечных инфекций. *Эпидемиол. и инфекц. бол. Актуальн. вопр.* 2014; (1): 4–8. [Maleev V.V., Gorelov A.V., Usenko D.V., Kuleshov K.V. Topical problems, results, and prospects in the study of acute enteric infections. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni. Aktual'nye voprosy*. 2014; (1): 4–8. (In Russ.)]

9. Потехина Р.М., Макаев Х.Н., Муртазина Г.Х. Антимикробная активность, токсикологические параметры и возможные отдалённые последствия селимакцида. *Вет. врач.* 2009; (5): 6–9. [Potekhina R.M., Makaev Kh.N., Murtazina G.Kh. Anti-microbial activity, toxicological parameters and possible remote consequences of selimaccede. *Veterinarnyy vrach*. 2009; (5): 6–9. (In Russ.)]

10. *Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии*. Под ред. Л.С. Стречунского, Ю.Б. Белоусова, С.Н. Козлова. М.: Боргес. 2002; 384 с. [*Prakticheskoe rukovodstvo po antiinfektsionnoy khimioterapii*. (Practical Guide to anti-infective chemotherapy.) Edited by L.S. Strachunsky, Yu.B. Belousov, S.N. Kozlov. Moscow: Borges. 2002; 384 p. (In Russ.)]

11. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Intern. J. Food Microbiol.* 2004; 94 (3): 223–253.

12. Lu Y., Zhang Y., Zhou H. et al Combined drug sensitivity test of 50 strains of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2014; 34 (11): 1697–1701.