

ИЗУЧЕНИЕ МОРФОСТРУКТУРНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ХЛОРСОДЕРЖАЩИХ ПРОИЗВОДНЫХ 5-,6-,7-АМИНОИНДОЛОВ С ПОМОЩЬЮ СКАНИРУЮЩЕГО ЭЛЕКТРОННОГО МИКРОСКОПА



А.А. Масейкина¹, И.С. Степаненко², Т.Н. Платкова¹, А.И. Кирютина¹, В.С. Малышева¹

¹ ФГБОУ ВО Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Россия

² ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Волгоград, Россия

Резюме. Клеточная стенка и мембраны грамположительных и грамотрицательных бактерий обеспечивают физический, осмотический и метаболический барьер между внутренним содержимым бактериальной клетки и внешней средой. Наблюдение за изменениями целостности бактериальной структуры с помощью сканирующего электронного микроскопа (СЭМ) может помочь прояснить детальные механизмы гибели клеток. Цель исследования — провести анализ морфологических изменений микробных клеток под воздействием новых соединений с противомикробной активностью — хлорсодержащих производных 5-,6-,7-аминоиндолов с помощью СЭМ. Настоящее исследование проводили с использованием штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*, полученных от больных с неспецифическими заболеваниями органов дыхания, мочевыводящих путей, кишечника, с различной чувствительностью к традиционно используемым антимикробным препаратам. В результате исследуемые хлорметилсодержащие соединения индольного ряда показали свою биологическую активность, а именно — противомикробную. Контрольные клетки были морфологически правильными и типичными. Статистический анализ морфометрии поверхности клеток в контрольных и опытных образцах не выявил существенных изменений размеров под воздействием соединений с лабораторным шифром Т1, Т4, Т7 и Т12. При этом по сравнению с контрольными необработанными клетками *P. aeruginosa*, *S. aureus* и *E. coli* обработка хлорзамещенными производными 5-,6-,7-аминоиндолов вызвала явные морфологические изменения, о чем свидетельствует об ухудшении состояния клеточной стенки. У *P. aeruginosa* под воздействием Т7 и Т12 наблюдались филаментные клетки. Появление длинных нитей может быть связано со стрессом, который испытывает клетка после воздействия исследуемых соединений. Считается, что образование таких филаментов у бактерий в условиях стресса является результатом дефектов клеточного деления, особенно при отделении дочерних клеток. Есть данные, согласно которым при подавлении синтеза ДНК бактерии изменяется ее морфология: она становится длиннее, не вступая в фазу деления.

Адрес для переписки:

Масейкина Алена Александровна
430005, Россия, г. Саранск, Большевикская ул., 68,
ФГБОУ ВО Национальный исследовательский Мордовский
государственный университет им. Н.П. Огарева.
Тел.: 8 (951) 343-54-08. E-mail: minibat@mail.ru

Contacts:

Alena A. Maseykina
430005, Russian Federation, Saransk, Bolshevistskaya str., 68,
National Research Ogarev Mordovia State University.
Phone: +7 (951) 343-54-08. E-mail: minibat@mail.ru

Для цитирования:

Масейкина А.А., Степаненко И.С., Платкова Т.Н., Кирютина А.И., Малышева В.С. Изучение морфоструктурных повреждений бактериальных клеток под воздействием хлорсодержащих производных 5-,6-,7-аминоиндолов с помощью сканирующего электронного микроскопа // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 2. С. 243–256. doi: 10.15789/2220-7619-MDT-2047

Citation:

Maseykina A.A., Stepanenko I.S., Platkova T.N., Kiryutina A.I., Malysheva V.S. Morphostructural damage to bacterial cells exposed to chlorine-containing derivatives of 5-,6-,7-aminoindoles assessed by scanning electron microscope // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 2, pp. 243–256. doi: 10.15789/2220-7619-MDT-2047

© Масейкина А.А. и соавт., 2023

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-MDT-2047>

Обработка T1, T7 и T12 приводила к деградации клеточной стенки *P. aeruginosa*, в то время как обработка T4 вызывала образование пор на поверхности клетки. В этом исследовании было продемонстрировано, что под действием T1, T4, T7 и T12 происходят заметные морфологические изменения клеточных стенок *S. aureus*, которые в конечном итоге приводят к деформации микробных клеток. Обработка клеток *E. coli* T1, T4, T7 и T12 при концентрации 500 мкг/мл вызывала лизис клеток, хотя нормальные клетки также были обнаружены. Появление клеточных обломков вокруг целых клеток *E. coli* указывает на повреждение мембраны, которое, вероятно, приводит к изменению осмотического давления. Использование СЭМ подтвердило данные об антимикробной активности хлорзамещенных производных 5-,6-,7-аминоиндолов.

Ключевые слова: морфоструктурные изменения бактерий, хлорсодержащие производные 5-,6-,7-аминоиндолов, сканирующая электронная микроскопия, клеточная стенка, антимикробная активность, ESKAPE-патогены.

MORPHOSTRUCTURAL DAMAGE TO BACTERIAL CELLS EXPOSED TO CHLORINE-CONTAINING DERIVATIVES OF 5-,6-,7-AMINOINDOLES ASSESSED BY SCANNING ELECTRON MICROSCOPE

Maseykina A.A.^a, Stepanenko I.S.^b, Platkova T.N.^a, Kiryutina A.I.^a, Malysheva V.S.^a

^a National Research Mordovia State University, Saransk, Russian Federation

^b Volgograd State Medical University, Volgograd, Russian Federation

Abstract. The cell wall and membranes of Gram-positive and Gram-negative bacteria provide a physical, osmotic, and metabolic barrier between the internal contents of the bacterial cell and the external environment. Observation of changes in the integrity of the bacterial structure using a scanning electron microscope (SEM) can help elucidate the detailed mechanisms of cell death. The aim of the study was to analyze the morphological changes in microbial cells exposed to new compounds with antimicrobial activity — chlorine-containing derivatives of 5-,6-,7-aminindoles using SEM. **Methods.** The present study was carried out using strains of *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli* obtained from patients with nonspecific diseases of the respiratory, urinary tract, and intestines with different sensitivities to traditionally used antimicrobial drugs. **Results.** As a result, the studied chloromethyl-containing compounds of the indole series showed own biological activity, namely antimicrobial. Control cells were morphologically correct and typical. Statistical analysis of cell surface morphometry in control and experimental samples did not reveal significant changes in size after exposure to compounds with laboratory codes T1, T4, T7 and T12. At the same time, compared with control untreated cells of *P. aeruginosa*, *S. aureus* and *E. coli*, treatment with chlorine-substituted derivatives of 5-,6-,7-aminindoles caused obvious morphological changes, which indicates a deteriorated state of the cell wall. Filamentous cells were observed in *P. aeruginosa* exposure to T7 and T12. The appearance of long filaments may be associated with the stress experienced by the cell after exposure to the compounds under study. It is believed that the formation of such filaments in bacteria under stress conditions results from defects in cell division, especially in the separation of daughter cells. There are data according to which, when DNA synthesis is suppressed, a bacterium changes its morphology, becomes longer, without reaching cell division. Treatment with T1, T7 and T12 resulted in degradation of the *P. aeruginosa* cell wall, while treatment with T4 caused the formation of pores on the cell surface. In this study, microscopy showed marked morphological changes in the cell walls of *S. aureus*, which led to deformation of the cell wall under the influence of T1, T4, T7 and T12. Treatment of *E. coli* T1, T4, T7 and T12 cells at a concentration of 500 µg/ml caused cell lysis, although normal cells were also found. The appearance of cellular debris around whole *E. coli* cells indicates membrane damage, which probably leads to a change in osmotic pressure. **Conclusion.** The results using SEM confirmed the data on the antimicrobial activity of chlorine-substituted derivatives of 5-,6-,7-aminindoles.

Key words: morphostructural changes in bacteria, chlorine-containing derivatives of 5-,6-,7-aminindoles, scanning electron microscopy, cell wall, antimicrobial activity, ESKAPE pathogens.

Введение

Разработка новых противомикробных соединений или других альтернативных средств для борьбы с возбудителями инфекционных заболеваний является важной задачей здравоохранения [1].

Антимикробная активность большинства классов противомикробных соединений направлена на какую-то уникальную особенность строения бактерий или их метаболических процессов. Среди механизмов действия можно

выделить: ингибирование синтеза клеточной стенки, нарушение структуры или функции клеточной мембраны, ингибирование структуры и функции нуклеиновых кислот, ингибирование синтеза белка и остановка основных метаболических путей [30].

Целостность клеточной структуры очень важна для жизнедеятельности бактерий [36]. Клеточная стенка и мембраны грамположительных и грамотрицательных бактерий обеспечивают физический, осмотический и метаболический барьер между внутренним содержи-

мым бактериальной клетки и внешней средой. Несомненно, что для всех этих функций необходима целостность мембраны, и ее нарушение может прямо или косвенно вызвать метаболическую дисфункцию и гибель клеток, помимо собственно образования пор. Наблюдение за изменением целостности бактериальной структуры с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) может помочь прояснить детальные механизмы гибели клеток [21, 22].

В настоящем исследовании мы использовали изоляты *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, так как эти патогены наиболее часто представляют собой терапевтическую проблему из-за формирующейся устойчивости к противомикробным препаратам [8, 9, 15, 18].

P. aeruginosa один из наиболее важных клинических оппортунистических патогенов [16, 17, 18, 39]. Он является возбудителем внутрибольничных, раневых инфекций, инфекций мочевыводящих путей и ЛОР-органов, острых и хронических инфекций легких у пациентов с кистозным фиброзом и т. д. [4, 20, 24, 29, 31].

Инфекции, вызванные *P. aeruginosa*, продолжают представлять терапевтическую проблему из-за лекарственной устойчивости, развивающейся во время терапии, и обусловленной низкой проницаемостью его наружной мембраны. Также наличие у *P. aeruginosa* клеточного (эффлюксного) насоса для оттока лекарств и β -лактамаз типа AmpC приводит к высоким показателям заболеваемости и смертности [13, 19, 32].

S. aureus является клиническим патогеном, вызывающим инфекции как у людей, так и у животных, начиная от поверхностных инфекций и заканчивая жизнеугрожающими инвазивными инфекциями [14, 25, 33].

S. aureus признан главным возбудителем внутрибольничных инфекций, приводящих к заболеваемости и смертности среди госпитализированных пациентов. Отчасти это связано с его способностью прилипать к поверхности медицинского оборудования и образовывать биопленку, представляющую собой многослойную структуру, состоящую из бактериальных сообществ, внедренных во внеклеточный матрикс [38].

E. coli является основной причиной энтерита, инфекций мочевыводящих путей, септицемии и других клинических инфекций, в том числе неонатального менингита. *E. coli* также часто вызывает диарею у домашних и сельскохозяйственных животных. Лечение инфекций, вызванных кишечной палочкой, находится под угрозой из-за появления устойчивости к противомикробным препаратам [26, 27, 35].

Описанные выше бактерии относятся к «ESKAPE»-патогенам, которые способны формировать изоляты с множественной лекарственной устойчивостью [9].

Исходя из вышеизложенного, целью нашего исследования был анализ морфологических изменений микробных клеток под воздействием новых соединений с противомикробной активностью — хлорсодержащих производных 5-,6-,7-аминоиндолов — с использованием СЭМ.

Материалы и методы

В качестве тестируемых соединений были использованы хлорзамещенные производные 5-,6-,7-аминоиндолов (табл. 1). Исследуемые соединения разработаны и получены на кафедре химии, технологии и методики обучения ФГБОУ ВО «МГПУ им. М.Е. Евсевьева», г. Саранск. Ранее была доказана противомикробная активность хлорсодержащих соединений индольного ряда [6].

Опытные штаммы микроорганизмов с различной чувствительностью к традиционно используемым антимикробным препаратам получены от больных с неспецифическими заболеваниями органов дыхания, мочевыводящих путей, кишечника.

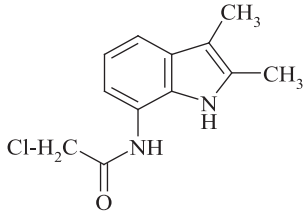
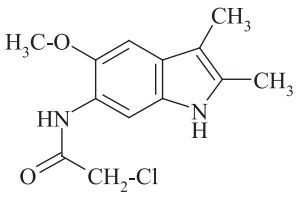
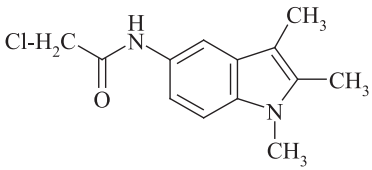
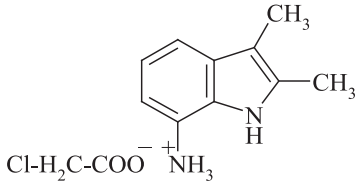
Верификацию опытных штаммов микроорганизмов осуществляли бактериологическими методами по классической методике [3, 5, 7].

Опытные штаммы *P. aeruginosa*, *S. aureus* и *E. coli* выращивали в течение ночи в бульоне LB. Суспензии клеток центрифугировали при 5000 об/мин в течение 10 мин. Осадок дважды промывали стерильным фосфатным буфером. Приблизительно 2×10^8 микробных клеток каждого опытного штамма переносили в пробирку Эппендорф на 1,5 мл и инкубировали с исследуемыми соединениями заданной концентрации (500 мкг/мл) в течение часа. Концентрацию микробных клеток вычисляли по оптической плотности. После инкубации клетки дважды промывали фосфатным буфером и центрифугировали при 5000 об/мин в течение 10 мин. Затем фиксировали в 2,5% растворе глутарового альдегида в течение 15 мин. После фиксации клетки снова отмывали фосфатным буфером и постепенно обезвоживали путем последовательных погружений в растворы этанола возрастающих концентраций (30, 50, 70, 90 и 96%). Каждый этап промывки и обезвоживания длился 10 мин. Затем клетки обезвоживали в чистом ацетоне (99,8%). Образцы бактерий высушивали в критической точке на установке Leica CPD 300, напыляли золотом на Quorum 150 RESplus и исследовали на сканирующем электронном микроскопе Tescan Mira 3. Рабочее расстояние и ускоряющее напряжение регулировались для получения подходящего увеличения. Для каждого препарата наблюдалось около 100 бактериальных клеток [28].

Все данные представлены в виде средних значений \pm стандартное отклонение в трех по-

Таблица 1. Молекулярные структуры исследуемых производных 5-, 6-, 7-аминоиндолов

Table 1. Molecular structures of the studied derivatives of 5-, 6-, 7-aminoindoles

Структурная формула Structural formula	Название, лабораторный шифр Name, laboratory code
	2-хлор-N-(2,3-диметил-1Н-индол-7-ил)ацетамид (Т-1) 2-chloro-N-(2,3-dimethyl-1H-indol-7-yl)acetamide (T-1)
	2-хлор-N-(5-метокси-2,3-диметил-1Н-индол-6-ил)ацетамид (Т-4) 2-chloro-N-(5-methoxy-2,3-dimethyl-1H-indol-6-yl)acetamide (T-4)
	2-хлор-N-(1,2,3-триметил-1Н-индол-5-ил)ацетамид (Т-7) 2-chloro-N-(1,2,3-trimethyl-1H-indol-5-yl)acetamide (T-7)
	Монохлорацетат-2,3-диметил-1Н-индол-7-аммония (Т-12) Monochloroacetate-2,3-dimethyl-1H-indole-7-ammonium (T-12)

вторностях. Статистическая значимость полученных различий считалась достоверной при значении $p \leq 0,05$. Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel версия 16.0.

Результаты

В контрольных образцах клетки *P. aeruginosa* длинные и неповрежденные (рис. 1А–В, 4А–В, 7А–В, 10А–В). Клетки *S. aureus* заключены в межклеточный матрикс синтезированных ими полимеров, есть участки с толстой, плотной и полностью сформировавшейся биопленкой, состоящей из многослойных бактериальных клеток (рис. 2А–В, 5А–В, 8А–В, 11А–В), клетки *E. coli* представляли собой типичные палочковидные бактерии длиной 1,22–1,88 мкм, шириной 0,37–0,43 мкм (рис. 3А–В, 6А–В, 9А–В, 12А–В).

Клетки *P. aeruginosa*, обработанные 2-хлор-N-(2,3-диметил-1Н-индол-7-ил)ацетамидом (Т1), короткие и более компактные. Поверхность обработанных клеток выглядит шероховатой и морщинистой по сравнению с поверхностью

необработанных клеток. Наблюдается образование пузырьков и везикул на наружной мембране. Клетки после воздействия Т1 имеют отверстия, вмятины и глубокие кратеры. Форма и размер клеток практически не изменились (рис. 1Г–Е).

В обработанных Т1 клетках *S. aureus* межклеточный матрикс поврежден или отсутствует, встречаются лопнувшие клетки. Некоторые клетки имеют сформированную перегородку деления. Форма и размер клеток практически не изменились (рис. 2Г–Е).

Клетки *E. coli* после воздействия исследуемого соединения Т1 имеют отверстия, вмятины и глубокие кратеры. Встречаются полностью лизированные клетки, тургор неразрушенных клеток нарушен. Форма и размер клеток практически не изменились (рис. 3Г–Е).

Статистический анализ морфометрии поверхности клеток в контрольных и опытных образцах не выявил существенных изменений размеров под воздействием Т1 (табл. 2).

Поверхность обработанных 2-хлор-N-(5-метокси-2,3-диметил-1Н-индол-6-ил)ацетамидом (Т4) клеток *P. aeruginosa* практически не от-

личается от поверхности клеток в контроле. Встречаются единичные поры на поверхности клеток, недоразвитые мелкие клетки, обломки оторвавшихся клеток. Форма и размер клеток практически не изменились (рис. 4Г–Е).

В обработанных Т4 клетках *S. aureus*, помимо гомогенного вещества, в больших количествах содержатся частицы зернистой формы, расположенные вокруг клеток *S. aureus*. Форма и размер обработанных клеток практически не изменились. Некоторые клетки имеют сформированную перегородку деления (рис. 5Г–Е).

Поверхность клеток *E. coli*, обработанных Т4, выглядит шероховатой и морщинистой, содержит вмятины по сравнению с поверхностью необработанных клеток. Отмечается полиморфизм клеток, вокруг клеток визуализируются мелкие гранулярные компоненты (рис. 6Г–Е).

Статистический анализ морфометрии поверхности клеток в контрольных и опытных образцах не выявил существенных изменений размеров под воздействием Т4 (табл. 3).

Таблица 2. Размеры поверхности бактериальных клеток при воздействии соединения с лабораторным шифром Т1 (500 мкг/мл)

Table 2. Surface dimensions of bacterial cells exposed to a compound with laboratory code T1 (500 µg/mL)

Исследуемый микроорганизм Investigated microorganism	Измеряемые параметры Measured parameters	
	Длина, мкм Length, µm	Ширина, мкм Width, µm
<i>P. aeruginosa</i>	1,80±0,39	0,66±0,02
<i>P. aeruginosa</i> (control)	2,10±0,44	0,66±0,03
<i>S. aureus</i>	0,69±0,02	0,69±0,02
<i>S. aureus</i> (control)	0,66±0,04	0,66±0,05
<i>E. coli</i>	1,23±0,18	0,41±0,06
<i>E. coli</i> (control)	1,45±0,28	0,40±0,02

Таблица 4. Размеры поверхности бактериальных клеток при воздействии соединения с лабораторным шифром Т7 (500 мкг/мл)

Table 4. Surface dimensions of bacterial cells exposed to the compound with laboratory code T7 (500 µg/mL)

Исследуемый микроорганизм Investigated microorganism	Измеряемые параметры Measured parameters	
	Длина, мкм Length, µm	Ширина, мкм Width, µm
<i>P. aeruginosa</i>	2,11±0,53	0,64±0,02
<i>P. aeruginosa</i> (control)	2,10±0,44	0,66±0,03
<i>S. aureus</i>	0,56±0,06	0,56±0,06
<i>S. aureus</i> (control)	0,66±0,04	0,66±0,05
<i>E. coli</i>	1,14±0,19	0,41±0,05
<i>E. coli</i> (control)	1,45±0,28	0,40±0,02

Некоторые клетки *P. aeruginosa*, обработанные 2-хлор-N-(1,2,3-триметил-1H-индол-5-ил) ацетамидом (Т7), имеют длинную нитевидную форму (рис. 7Г–Д). Клеточная стенка части клеток *P. aeruginosa* отходит от клеточной мембраны (рис. 7Д–Е). Встречаются лопнувшие клетки, из полости которых происходит отток внутриклеточного материала (рис. 7Д).

В обработанных Т7 клетках *S. aureus*, помимо гомогенного вещества, содержатся в больших количествах гранулярные соединения. Вокруг клеток *S. aureus* наблюдается большое количество клеточных обломков, обработанные клетки слипаются (рис. 8Г–Е).

Поверхность клеток *E. coli*, обработанная соединением Т7, по сравнению с поверхностью необработанных клеток выглядит шероховатой и морщинистой, содержит вмятины. Наблюдается клеточный полиморфизм, вокруг клеток определяются мелкие гранулярные компоненты. Отмечены потеря тургорного давления и лизис клеток (рис. 9Г–Е).

Таблица 3. Размеры поверхности бактериальных клеток при воздействии соединения с лабораторным шифром Т4 (500 мкг/мл)

Table 3. Surface dimensions of bacterial cells exposed to a compound with laboratory code T4 (500 µg/mL)

Исследуемый микроорганизм Investigated microorganism	Измеряемые параметры Measured parameters	
	Длина, мкм Length, µm	Ширина, мкм Width, µm
<i>P. aeruginosa</i>	2,45±0,65	0,62±0,03
<i>P. aeruginosa</i> (control)	2,10±0,44	0,66±0,03
<i>S. aureus</i>	0,59±0,10	0,59±0,10
<i>S. aureus</i> (control)	0,66±0,04	0,66±0,05
<i>E. coli</i>	1,31±0,40	0,40±0,06
<i>E. coli</i> (control)	1,45±0,28	0,40±0,02

Таблица 5. Размеры поверхности бактериальных клеток при воздействии соединения с лабораторным шифром Т12 (500 мкг/мл)

Table 5. Surface dimensions of bacterial cells exposed to a compound with laboratory code T12 (500 µg/mL)

Исследуемый микроорганизм Investigated microorganism	Измеряемые параметры Measured parameters	
	Длина, мкм Length, µm	Ширина, мкм Width, µm
<i>P. aeruginosa</i>	2,01±0,79	0,66±0,04
<i>P. aeruginosa</i> (control)	2,10±0,44	0,66±0,03
<i>S. aureus</i>	0,63±0,07	0,63±0,07
<i>S. aureus</i> (control)	0,66±0,04	0,66±0,05
<i>E. coli</i>	1,39±0,44	0,40±0,01
<i>E. coli</i> (control)	1,45±0,28	0,40±0,02

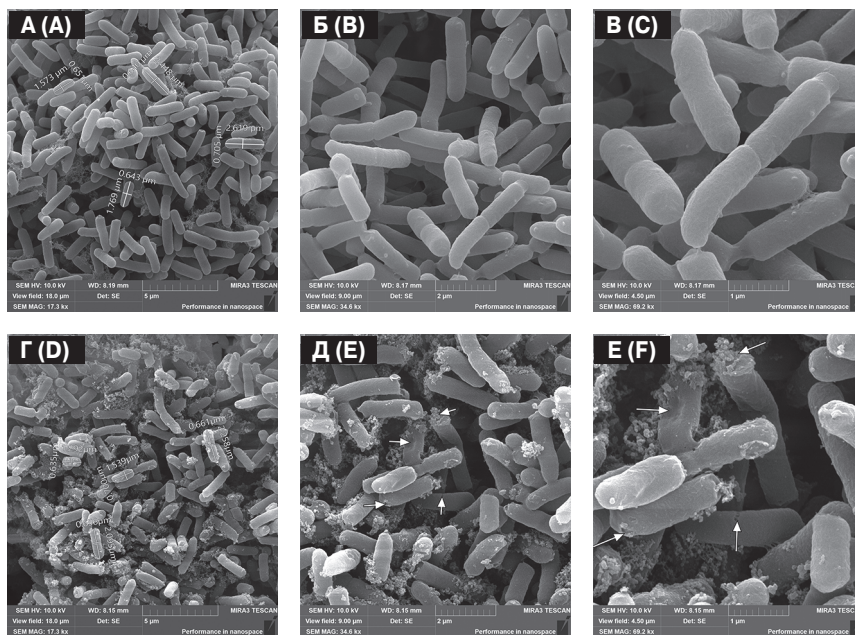


Рисунок 1. Морфоструктурные изменения *P. aeruginosa* под воздействием 2-хлор-N-(2,3-диметил-1H-индол-7-ил)ацетамида (Т-1)

Figure 1. Morphostructural changes in *P. aeruginosa* exposed to 2-chloro-N-(2,3-dimethyl-1H-indol-7-yl)acetamide (T-1)

Примечание. А, Б, В — интактные клетки *P. aeruginosa* без обработки исследуемым соединением; Г, Д, Е — клетки *P. aeruginosa* после воздействия исследуемым соединением.

Note. A, B, C — intact *P. aeruginosa* cells without treatment with the test compound; D, E, F — *P. aeruginosa* cells after exposure to the test compound.

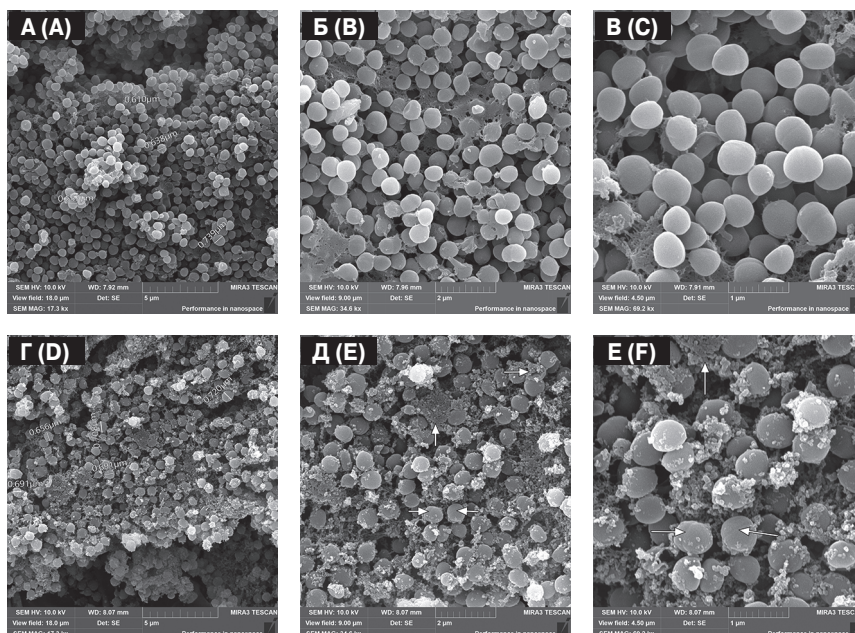


Рисунок 2. Морфоструктурные изменения *S. aureus* под воздействием 2-хлор-N-(2,3-диметил-1H-индол-7-ил)ацетамида (Т-1)

Figure 2. Morphostructural changes in *S. aureus* exposed to 2-chloro-N-(2,3-dimethyl-1H-indol-7-yl)acetamide (T-1)

Примечание. А, Б, В — интактные клетки *S. aureus* без обработки исследуемым соединением; Г, Д, Е — клетки *S. aureus* после воздействия исследуемым соединением.

Note. A, B, C — intact *S. aureus* cells without treatment with the test compound; D, E, F — *S. aureus* cells after exposure to the test compound.

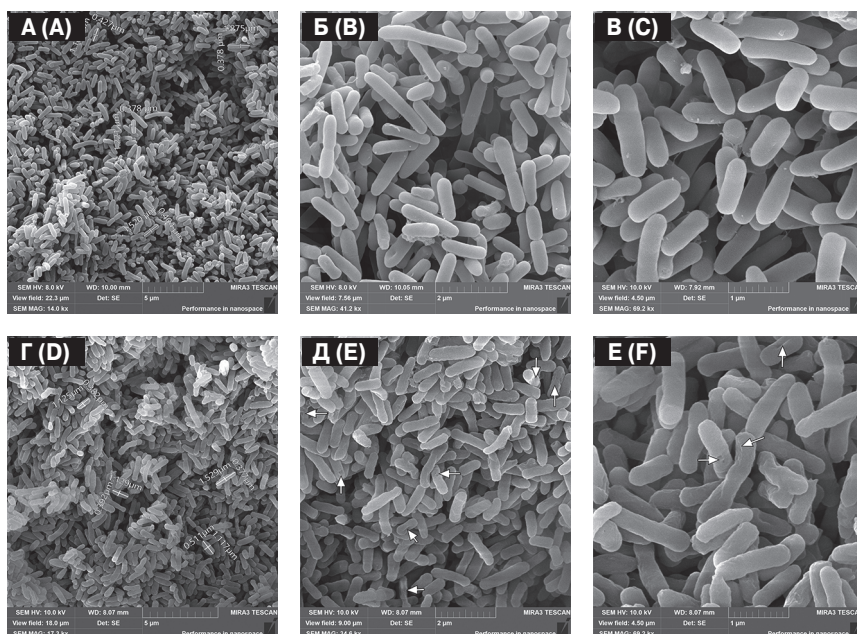


Рисунок 3. Морфоструктурные изменения *E. coli* под воздействием 2-хлор-N-(2,3-диметил-1H-индол-7-ил)ацетамида (Т-1)

Figure 3. Morphostructural changes in *E. coli* exposed to 2-chloro-N-(2,3-dimethyl-1H-indol-7-yl)acetamide (T-1)

Примечание. А, Б, В — интактные клетки *E. coli* без обработки исследуемым соединением; Г, Д, Е — клетки *E. coli* после воздействия исследуемым соединением.

Note. A, B, C — intact *E. coli* cells without test compound treatment; D, E, F — *E. coli* cells after exposure to the test compound.

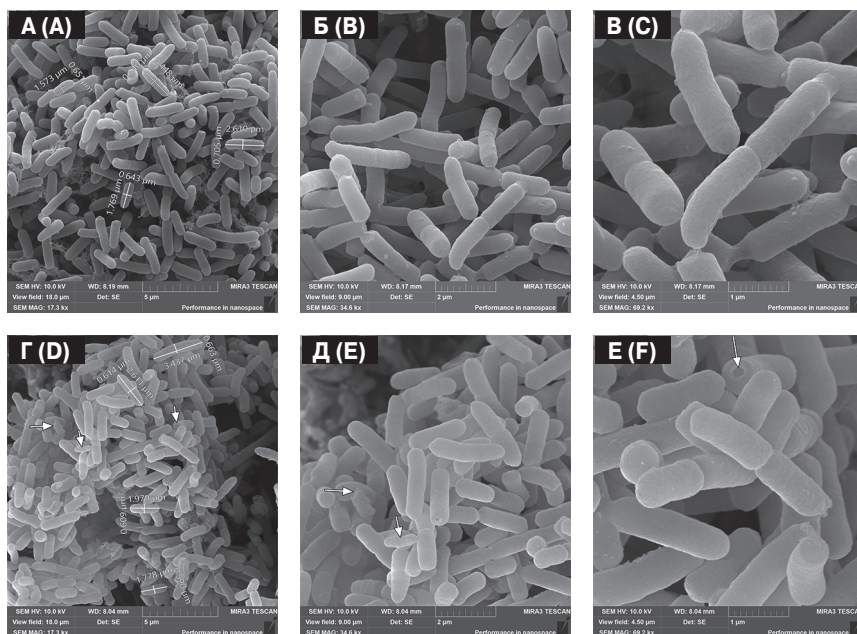


Рисунок 4. Морфоструктурные изменения *P. aeruginosa* под воздействием 2-хлор-N-(5-метокси-2,3-диметил-1H-индол-6-ил)ацетамида (Т-4)

Figure 4. Morphostructural changes in *P. aeruginosa* exposed to 2-chloro-N-(5-methoxy-2,3-dimethyl-1H-indol-6-yl)acetamide (T-4)

Примечание. А, Б, В — интактные клетки *P. aeruginosa* без обработки исследуемым соединением; Г, Д, Е — клетки *P. aeruginosa* после воздействия исследуемым соединением.

Note. A, B, C — intact *P. aeruginosa* cells without treatment with the test compound; D, E, F — *P. aeruginosa* cells after exposure to the test compound.

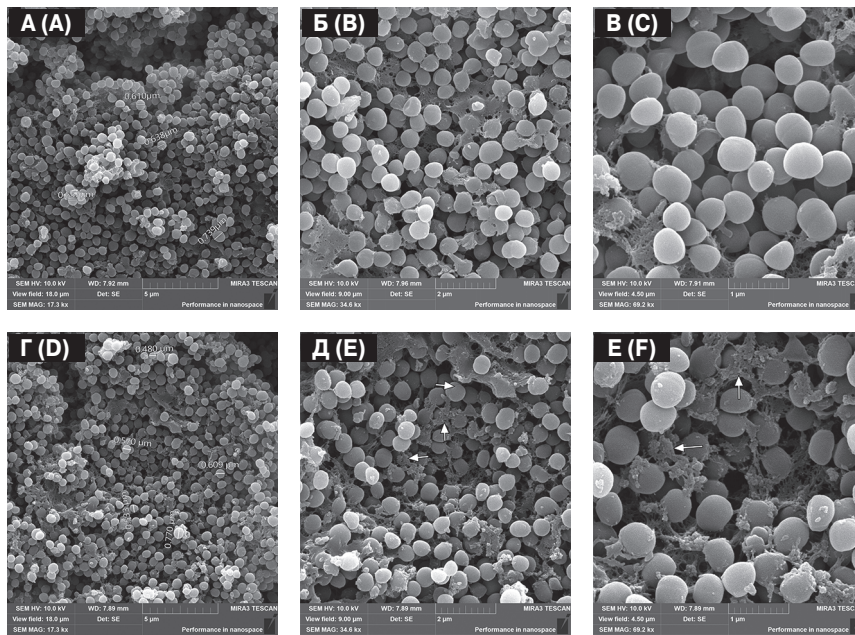


Рисунок 5. Морфоструктурные изменения *S. aureus* под воздействием 2-хлор-N-(5-метокси-2,3-диметил-1H-индол-6-ил)ацетамида (Т-4)

Figure 5. Morphostructural changes in *S. aureus* exposed to 2-chloro-N-(5-methoxy-2,3-dimethyl-1H-indol-6-yl)acetamide (T-4)

Примечание. А, Б, В — интактные клетки *S. aureus* без обработки исследуемым соединением; Г, Д, Е — клетки *S. aureus* после воздействия исследуемым соединением.

Note. A, B, C — intact *S. aureus* cells without treatment with the test compound; D, E, F — *S. aureus* cells after exposure to the test compound.

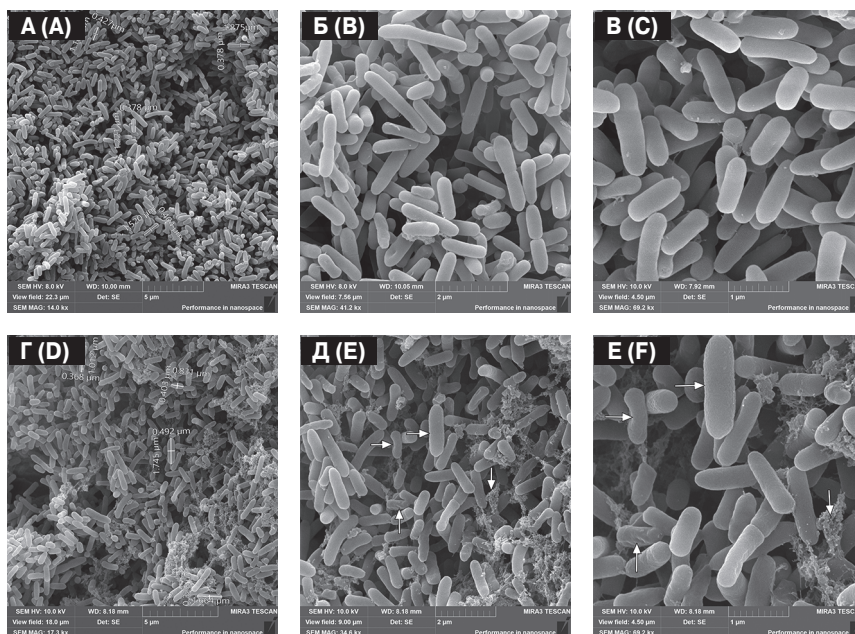


Рисунок 6. Морфоструктурные изменения *E. coli* под воздействием 2-хлор-N-(5-метокси-2,3-диметил-1H-индол-6-ил)ацетамида (Т-4)

Figure 6. Morphostructural changes in *E. coli* exposed to 2-chloro-N-(5-methoxy-2,3-dimethyl-1H-indol-6-yl)acetamide (T-4)

Примечание. А, Б, В — интактные клетки *E. coli* без обработки исследуемым соединением; Г, Д, Е — клетки *E. coli* после воздействия исследуемым соединением.

Note. A, B, C — intact *E. coli* cells without test compound treatment; D, E, F — *E. coli* cells after exposure to the test compound.

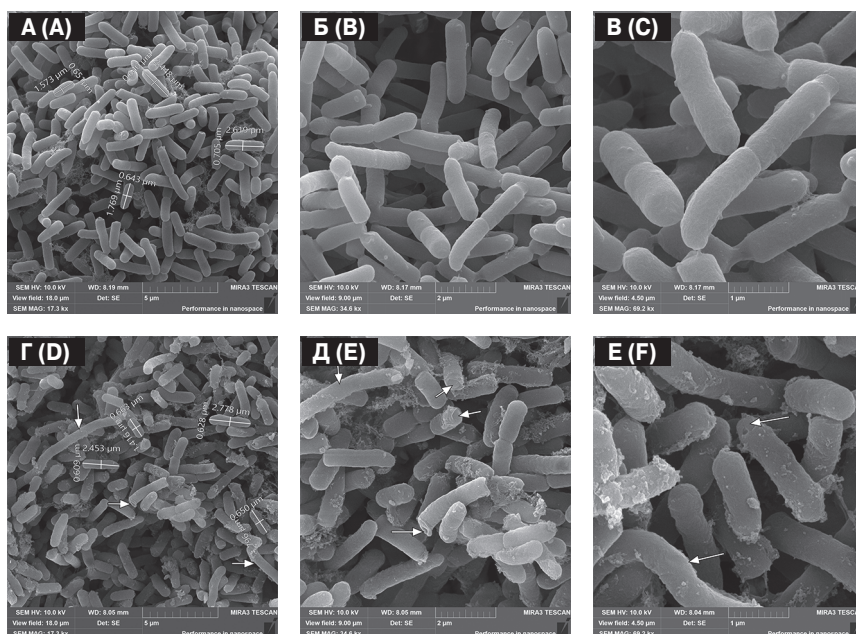


Рисунок 7. Морфоструктурные изменения *P. aeruginosa* под воздействием 2-хлор-N-(1,2,3-триметил-1H-индол-5-ил)ацетамида (Т-7)

Figure 7. Morphostructural changes in *P. aeruginosa* exposed to 2-chloro-N-(1,2,3-trimethyl-1H-indol-5-yl)acetamide (T-7)

Примечание. А, Б, В — интактные клетки *P. aeruginosa* без обработки исследуемым соединением; Г, Д, Е — клетки *P. aeruginosa* после воздействия исследуемым соединением.

Note. A, B, C — intact *P. aeruginosa* cells without treatment with the test compound; D, E, F — *P. aeruginosa* cells after exposure to the test compound.

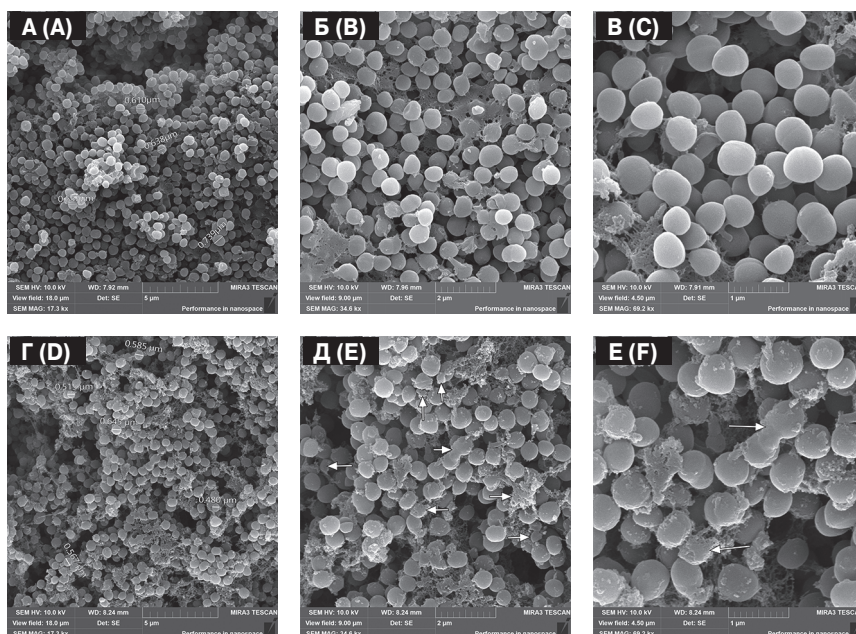


Рисунок 8. Морфоструктурные изменения *S. aureus* под воздействием 2-хлор-N-(1,2,3-триметил-1H-индол-5-ил)ацетамида (Т-7)

Figure 8. Morphostructural changes in *S. aureus* exposed to 2-chloro-N-(1,2,3-trimethyl-1H-indol-5-yl)acetamide (T-7)

Примечание. А, Б, В — интактные клетки *S. aureus* без обработки исследуемым соединением; Г, Д, Е — клетки *S. aureus* после воздействия исследуемым соединением.

Note. A, B, C — intact *S. aureus* cells without treatment with the test compound; D, E, F — *S. aureus* cells after exposure to the test compound.

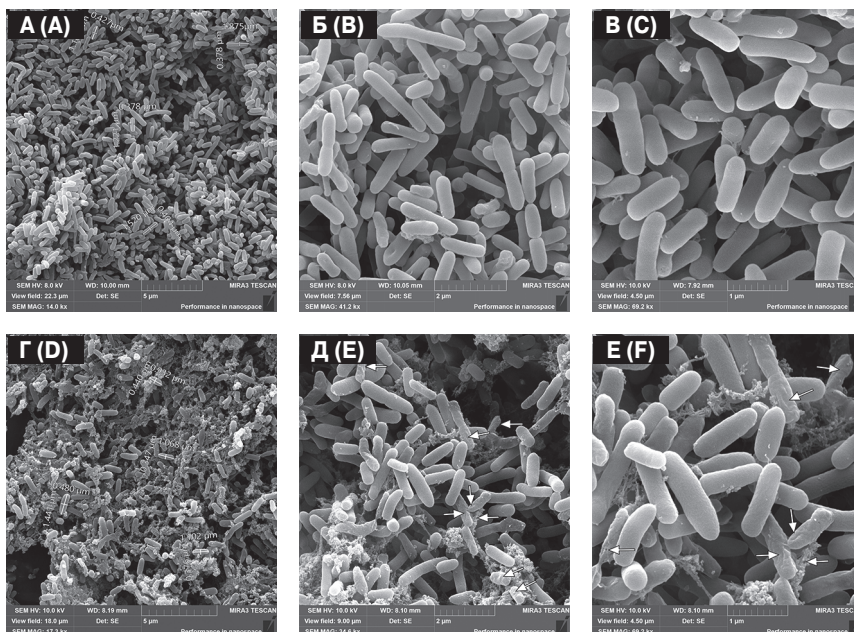


Рисунок 9. Морфоструктурные изменения *E. coli* под воздействием 2-хлор-N-(1,2,3-триметил-1H-индол-5-ил)ацетамида (Т-7)

Figure 9. Morphostructural changes in *E. coli* exposed to 2-chloro-N-(1,2,3-trimethyl-1H-indol-5-yl)acetamide (T-7)

Примечание. А, Б, В — интактные клетки *E. coli* без обработки исследуемым соединением; Г, Д, Е — клетки *E. coli* после воздействия исследуемым соединением.

Note. A, B, C — intact *E. coli* cells without test compound treatment; D, E, F — *E. coli* cells after exposure to the test compound.

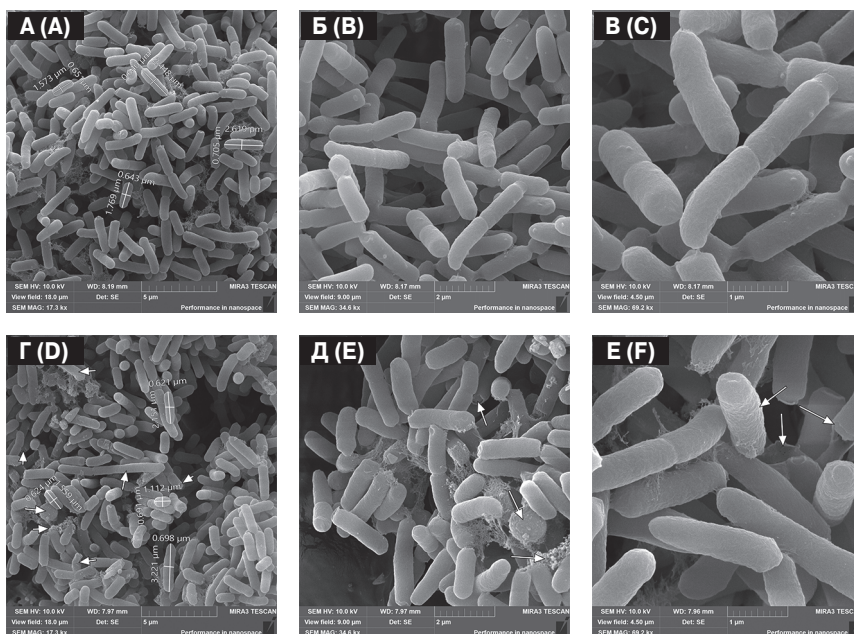


Рисунок 10. Морфоструктурные изменения *P. aeruginosa* под воздействием монохлорацетат-2,3-диметил-1H-индол-7-аммония (Т-12)

Figure 10. Morphostructural changes in *P. aeruginosa* exposed to monochloroacetate-2,3-dimethyl-1H-indole-7-ammonium (T-12)

Примечание. А, Б, В — интактные клетки *P. aeruginosa* без обработки исследуемым соединением; Г, Д, Е — клетки *P. aeruginosa* после воздействия исследуемым соединением.

Note. A, B, C — intact *P. aeruginosa* cells without treatment with the test compound; D, E, F — *P. aeruginosa* cells after exposure to the test compound.

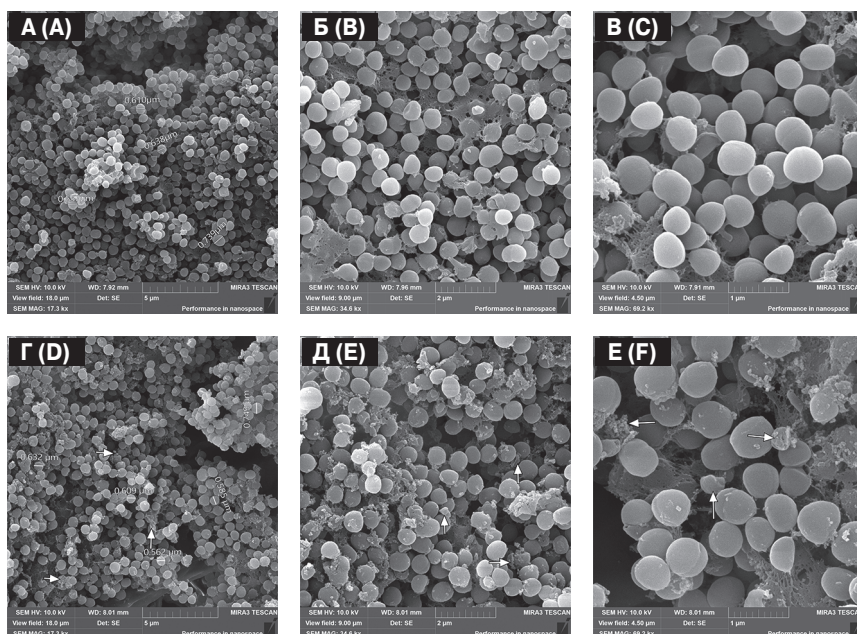


Рисунок 11. Морфоструктурные изменения *S. aureus* под воздействием монохлорацетат-2,3-диметил-1H-индол-7-аммония (Т-12)

Figure 11. Morphostructural changes in *S. aureus* exposed to monochloroacetate-2,3-dimethyl-1H-indole-7-ammonium (T-12)

Примечание. А, Б, В — интактные клетки *S. aureus* без обработки исследуемым соединением; Г, Д, Е — клетки *S. aureus* после воздействия исследуемым соединением.

Note. A, B, C — intact *S. aureus* cells without treatment with the test compound; D, E, F — *S. aureus* cells after exposure to the test compound.

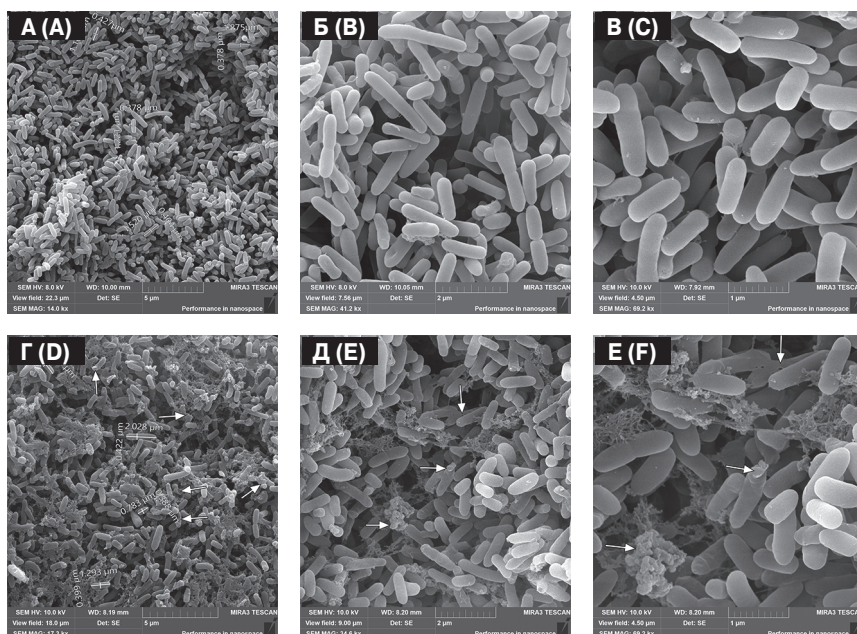


Рисунок 12. Морфоструктурные изменения *E. coli* под воздействием монохлорацетат-2,3-диметил-1H-индол-7-аммония (Т-12)

Figure 12. Morphostructural changes in *E. coli* exposed to monochloroacetate-2,3-dimethyl-1H-indole-7-ammonium (T-12)

Примечание. А, Б, В — интактные клетки *E. coli* без обработки исследуемым соединением; Г, Д, Е — клетки *E. coli* после воздействия исследуемым соединением.

Note. A, B, C — intact *E. coli* cells without test compound treatment; D, E, F — *E. coli* cells after exposure to the test compound.

Статистический анализ морфометрии поверхности клеток в контрольных и опытных образцах не выявил существенных изменений размеров под воздействием Т7 (табл. 4).

Некоторые клетки *P. aeruginosa*, обработанные монохлорацетат-2,3-диметил-1Н-индол-7-аммонием (Т12), имеют длинную нитевидную форму и шероховатую поверхность (рис. 10Г–Д). Клеточная стенка части клеток *P. aeruginosa* отходит от клеточной мембраны (рис. 10Г–Е). Встречаются лопнувшие клетки, из полости которых вытекает внутриклеточное содержимое (рис. 10Д).

Вокруг клеток *S. aureus*, обработанных Т12, наблюдается большое количество клеточных обломков, встречаются лопнувшие клетки, наблюдается отток внутриклеточного материала из полости клеток (рис. 11Г–Е). Помимо гомогенного вещества рядом с клетками содержатся в больших количествах элементы зернистой формы.

Клетки *E. coli* после воздействия исследуемого соединения Т12 имеют отверстия, глубокие кратеры, выявляются клеточные обломки, полностью лизированные клетки. Форма и размер клеток практически не изменены (рис. 12Г–Е).

Статистический анализ морфометрии поверхности клеток в контрольных и опытных образцах не выявил существенных изменений размеров под воздействием Т12 (табл. 5).

Обсуждение

Индольные алкалоиды служат основой природных и синтетических физиологически активных веществ. Являясь частью живых систем, индол содержится в молекулах биогенного амина серотонина и незаменимой белковой аминокислоты триптофана. Исследуемые хлорсодержащие соединения индольного ряда показали свою биологическую активность, а именно — противомикробную.

Контрольные клетки были морфологически правильными и типичными (рис. 1–12, А–В) [8]. Статистический анализ морфометрии поверхности клеток в контрольных и опытных образцах не выявил существенных изменений размеров под воздействием соединений с лабораторным шифром Т1, Т4, Т7 и Т12. При этом, по сравнению с контрольными необработанными клетками *P. aeruginosa*, *S. aureus* и *E. coli*, обработка хлорзамещенными производными

5-,6-,7-аминоиндолов вызывала явные морфологические изменения, что свидетельствует об ухудшении состояния клеточной стенки.

В колониях *P. aeruginosa* под воздействием Т7 и Т12 наблюдались филаментные клетки (рис. 7Г, 10Г). Появление длинных нитей может быть связано со стрессом, который испытывает клетка после воздействия исследуемых соединений. Считается, что образование таких филаментов у бактерий в условиях стресса является результатом дефектов клеточного деления, особенно при отделении дочерних клеток [23, 40]. Есть данные, согласно которым при подавлении синтеза ДНК бактерии изменяется ее морфология, она становится длиннее, но деления клетки не происходит [37, 34]. Обработка Т1, Т7 и Т12 приводила к деградации клеточной стенки *P. aeruginosa* (рис. 1Г–Е, 7Г–Е, 10Г–Е), в то время как обработка Т4 вызывала образование пор на поверхности клетки (рис. 4Е).

В этом исследовании данные, полученные с СЭМ, показали заметные морфологические изменения клеточных стенок *S. aureus* под действием Т1, Т4, Т7 и Т12, что привело к деформации клеток (рис. 2Г–Е, 5Г–Е, 8Г–Е, 11Г–Е). Эти морфологические изменения могут быть связаны с абберациями липидного состава мембраны, ее измененной текучестью и/или нарушениями целостности мембраны, что приводит к лизису клеточной стенки и потере внутриклеточного материала [2, 11, 15, 21].

Обработка клеток *E. coli* Т1, Т4, Т7 и Т12 при концентрации 500 мкг/мл вызывала лизис клеток, хотя нелизированные клетки также были обнаружены (рис. 3Г–Е, 6Г–Е, 9Г–Е, 12Г–Е). Появление клеточных обломков вокруг целых клеток *E. coli* указывает на повреждение мембраны, которое, вероятно, приводит к изменению осмотического давления (рис. 12Д–Е) [10, 12].

Результаты с использованием СЭМ подтвердили данные об антимикробной активности хлорзамещенных производных 5-,6-,7-аминоиндолов. Действительно, полученные морфологические изменения бактериальной поверхности указывают на мембраноповреждающую активность исследуемых соединений.

Благодарности

Работа была выполнена с использованием оборудования ЦКП «Инструментальные методы в экологии» при ИПЭЭ РАН.

Список литературы/References

1. Агарев А.Е. Распространенность ESKAPE-патогенов в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных // Социально-гигиенический мониторинг здоровья населения: материалы к 24-й Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. Вып. 24. Под ред. В.А. Кирышина. Рязань, 2020. С. 148–152. [Agarev A.E. Prevalence of ESKAPE-pathogens in neonatal intensive care units // Social and Hygienic Monitoring of Population Health: Proceedings for the 24th All-Russian Scientific and Practical Conference with International Participation. Iss. 24. Ed. by V.A. Kiryushin. Rязань, 2020, pp. 148–152. (In Russ.)]

2. Андреевская С.Г., Шевлягина Н.В., Псеунова Д.Р. Изменения морфологии *S. aureus* в условиях их культивирования в присутствии антибактериальных препаратов // Медицина. 2020. Т. 8, № 2. С. 31–49. [Andreevskaya S.G., Shevlyagina N.V., Pseunova J.R. Morphological changes of *S. aureus* cultivated in the presence of antibacterial drugs. *Meditsina = Medicine*, 2020, vol. 8, no. 2, pp. 31–49. (In Russ.)] doi: 10.29234/2308-9113-2020-8-2-31-49
3. Методики клинических лабораторных исследований: справочное пособие. Том 3. Клиническая микробиология: бактериологические исследования; микологические исследования; паразитологические исследования; инфекционная иммунодиагностика; молекулярная диагностика инфекционных заболеваний / Под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабора, 2009. 880 с. [Methods of clinical laboratory tests: a reference manual. Vol. 3. Clinical microbiology: bacteriological studies; mycological studies; parasitological studies; infectious immunodiagnosics; molecular diagnosis of infectious diseases. Ed. by V.V. Menshikov. Moscow: Labora, 2009. 880 p. (In Russ.)]
4. Мороз А.Ф., Анциферова Н.Г., Баскакова Н.В. Синегнойная инфекция. М.: Медицина, 1988. 256 с. [Moroz A.F., Antsiferova N.G., Baskakova N.V. *Pseudomonas* infection. Moscow: Meditsina, 1988. 256 p. (In Russ.)]
5. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений: приказ МЗ СССР № 535 от 22.04.1985 г. М., 1985. 93 с. [Unification of microbiological (bacteriological) methods of investigation used in clinical diagnostic laboratories of medical and preventive institutions: Order of the Ministry of Health of the USSR No. 535. April 22, 1985. Moscow, 1985. 93 p. (In Russ.)]
6. Патент № 2724605 Российская Федерация. МПК C07D 209/40 (2006.01), СПК C07D 209/40 (2020.02). Способ получения монохлорацетатов замещенных 5-, 6-, 7-аминоиндолов, обладающих противомикробным действием; № 2019125333, заявлено 2019.08.09, опубликовано 2020.06.25 / Степаненко И.С., Ямашкин С.А., Батаршева А.А., Слостников Е.Д. Патентообладатель: МГУ им. Н.П. Огарева. 9 с. [Patent No 2724605 Russian Federation, Int.Cl. C07D 209/40 (2006.01), C07D 209/40 (2020.02). Method of producing monochloroacetates of substituted 5-, 6-, 7-aminoindoles, having antimicrobial action; № 2019125333, application 2019.08.09; date of publication 2020.06.25 / Stepanenko I.S., Yamashkin S.A., Batarshcheva A.A., Slastnikov E.D. Proprietors National Research Mordovia State University. 9 p.]
7. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012. 944 с. [Guidelines for conducting preclinical studies of medicines. Part one. Moscow: Grif i K, 2012. 944 p. (In Russ.)]
8. Сазыкин Ю.О., Навашин П.С. Антибиотики и оболочка бактериальной клетки. Итоги науки и техники. Сер. Биотехнология. М.: ВИНТИ, 1991. Т. 31. 182 с. [Sazykin Yu.O., Navashin P.S. Antibiotics and bacterial cell envelope. Science and Technology Outcomes. Biotechnology Series. Moscow: VINITI, 1991, vol. 31, 182 p. (In Russ.)]
9. Супотницкий М.В. Механизмы развития резистентности к антибиотикам у бактерий // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2011. Т. 42, № 2. С. 4–13. [Supotnitskiy M.V. Mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. *BIOPreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = Biological Products. Prevention, Diagnostics, Treatment*, 2011, vol. 42, no. 2, pp. 4–13. (In Russ.)]
10. Armas F., Pacor S., Ferrari E., Guida F., Pertinhez T.A., Romani A.A., Scocchi M., Benincasa M. Design, antimicrobial activity and mechanism of action of Arg-rich ultra-short cationic lipopeptides. *PLoS One*, 2019, vol. 14, no. 2: e0212447. doi: 10.1371/journal.pone.0212447
11. Bajpai V.K., Shukla S., Paek W.K., Lim J., Kumar P., Kumar P., Na M. Efficacy of (+)-Lariciresinol to control bacterial growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7. *Front. Microbiol.*, 2017, vol. 8: 804. doi: 10.3389/fmicb.2017.00804
12. Barreto-Santamaría A., Curtidor H., Arévalo-Pinzón G., Herrera C., Suárez D., Pérez W.H., Patarroyo M.E. A New Synthetic Peptide Having Two Target of Antibacterial Action in *E. coli* ML35. *Front. Microbiol.*, 2016, vol. 7: 2006. doi: 10.3389/fmicb.2016.02006
13. Ciofu O., Hansen C.R., Høiby N. Respiratory bacterial infections in cystic fibrosis. *Curr. Opin. Pulm. Med.*, 2013, vol. 19, no. 3, pp. 251–8. doi: 10.1097/MCP.0b013e32835f1af4
14. Classics in infectious diseases. «On abscesses». Alexander Ogston (1844–1929). *Rev. Infect. Dis.*, 1984, vol. 6, no. 1, pp. 122–128. doi: 10.1093/clinids/6.1.122
15. Cui H., Zhang X., Zhou H., Zhao C., Lin L. Antimicrobial activity and mechanisms of *Salvia sclarea* essential oil. *Bot. Stud.*, 2015, vol. 56, no. 1: 16. doi: 10.1186/s40529-015-0096-4
16. Defez C., Fabbro-Peray P., Bouziges N., Gouby A., Mahamat A., Daurès J.P., Sotto A. Risk factors for multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial infection. *J. Hosp. Infect.*, 2004, vol. 57, no. 3, pp. 209–216. doi: 10.1016/j.jhin.2004.03.022
17. Diggle S.P., Whiteley M. Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat. *Microbiology (Reading)*, 2020, vol. 166, no. 1, pp. 30–33. doi: 10.1099/mic.0.000860
18. Dosunmu E.F., Chaudhari A.A., Bawage S., Bakeer M.K., Owen D.R., Singh S.R., Dennis V.A., Pillai S.R. Novel cationic peptide TP359 down-regulates the expression of outer membrane biogenesis genes in *Pseudomonas aeruginosa*: a potential TP359 anti-microbial mechanism. *BMC Microbiol.*, 2016, vol. 16, no. 1: 192. doi: 10.1186/s12866-016-0808-2
19. Dosunmu E., Chaudhari A.A., Singh S.R., Dennis V.A., Pillai S.R. Silver-coated carbon nanotubes downregulate the expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence genes: a potential mechanism for their antimicrobial effect. *Int. J. Nanomedicine*, 2015, vol. 10, pp. 5025–5034. doi: 10.2147/IJN.S85219
20. Eckert R., Brady K.M., Greenberg E.P., Qi F., Yarbrough D.K., He J., McHardy I., Anderson M.H., Shi W. Enhancement of antimicrobial activity against *Pseudomonas aeruginosa* by coadministration of G10KHc and tobramycin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2006, vol. 50, no. 11, pp. 3833–3838. doi: 10.1128/AAC.00509-06
21. Greenwood D., O'Grady F. Scanning electron microscopy of *Staphylococcus aureus* exposed to some common anti-staphylococcal agents. *J. Gen. Microbiol.*, 1972, vol. 70, no. 2, pp. 263–270. doi: 10.1099/00221287-70-2-263
22. Hartmann M., Berditsch M., Hawecker J., Ardakani M.F., Gerthsen D., Ulrich A.S. Damage of the bacterial cell envelope by antimicrobial peptides gramicidin S and PGLa as revealed by transmission and scanning electron microscopy. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2010, vol. 54, no. 8, pp. 3132–3142. doi: 10.1128/AAC.00124-10
23. Jones T.H., Vail K.M., McMullen L.M. Filament formation by foodborne bacteria under sublethal stress. *Int. J. Food Microbiol.*, 2013, vol. 165, no. 2, pp. 97–110. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.05.001

24. Kolle W., Hetsch H. Die experimentelle Bakteriologie und die Infektionskrankheiten mit besonderer Berücksichtigung der Immunitätslehre. Ein Lehrbuch für Studierende Ärzte und Medizinalbeamte. *Urban & Schwarzenberg, Berlin 1906.*
25. Kong C., Chee C.F., Richter K., Thomas N., Abd Rahman N., Nathan S. Suppression of *Staphylococcus aureus* biofilm formation and virulence by a benzimidazole derivative, UM-C162. *Sci. Rep.*, 2018, vol. 8, no. 1: 2758. doi: 10.1038/s41598-018-21141-2
26. Leimbach A., Hacker J., Dobrindt U. E. coli as an all-rounder: the thin line between commensalism and pathogenicity. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2013, vol. 358, pp. 3–32. doi: 10.1007/82_2012_303
27. Mahgoub S.A., Osman A.O., Sitohy M.Z. Bioactive proteins against pathogenic and spoilage bacteria. *Functional Foods in Health and Disease*, 2014, vol. 4, no. 10, pp. 451–462. doi: 10.31989/ffhd.v4i10.155
28. Marcellini L., Giammatteo M., Aimola P., Mangoni M.L. Fluorescence and electron microscopy methods for exploring antimicrobial peptides mode(s) of action. *Methods Mol. Biol.*, 2010, vol. 618, pp. 249–266. doi: 10.1007/978-1-60761-594-1_16
29. Migula W. System der Bakterien: Handbuch der Morphologie, Entwicklungsgeschichte und Systematik der Bakterien. *Fischer, 1900. 410 p.*
30. Mwangi J., Yin Y., Wang G., Yang M., Li Y., Zhang Z., Lai R. The antimicrobial peptide ZY4 combats multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2019, vol. 116, no. 52, pp. 26516–26522. doi: 10.1073/pnas.1909585117
31. Schroeter J. Ueber einige durch Bakterien gebildete Pigmente. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen*, 1872, vol. 1, no. 2, pp. 109–126.
32. Sun H.Y., Fujitani S., Quintiliani R., Yu V.L. Pneumonia due to *Pseudomonas aeruginosa*: part II: antimicrobial resistance, pharmacodynamic concepts, and antibiotic therapy. *Chest*, 2011, vol. 139, no. 5, pp. 1172–1185. doi: 10.1378/chest.10-0167
33. Rosenbach A.J.F. Mikro-organismen bei den Wund-infections-krankheiten des Menschen. *Wiesbaden: JF Bergmann, 1884. 122 p.*
34. Rosenberger C.M., Gallo R.L., Finlay B.B. Interplay between antibacterial effectors: a macrophage antimicrobial peptide impairs intracellular *Salmonella* replication. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004, vol. 101, no. 8, pp. 2422–2427. doi: 10.1073/pnas.0304455101
35. Shulman S.T., Friedmann H.C., Sims R.H. Theodor Escherich: the first pediatric infectious diseases physician? *Clin. Infect. Dis.*, 2007, vol. 45, no. 8, pp. 1025–1029. doi: 10.1086/521946
36. Silhavy T.J., Kahne D., Walker S. The bacterial cell envelope. *Cold Spring Harb. Perspect Biol.*, 2010, vol. 2, no. 5: a000414. doi: 10.1101/cshperspect.a000414
37. Subbalakshmi C., Sitaram N. Mechanism of antimicrobial action of indolicidin. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1998, vol. 160, no. 1, pp. 91–96. doi: 10.1111/j.1574-6968.1998.tb12896.x
38. Wu Y., Liang J., Rensing K., Chou T.M., Libera M. Extracellular matrix reorganization during cryo preparation for scanning electron microscope imaging of *Staphylococcus aureus* biofilms. *Microsc. Microanal.*, 2014, vol. 20, no. 5, pp. 1348–1355. doi: 10.1017/S143192761401277X
39. Xu Z.G., Gao Y., He J.G., Xu W.F., Jiang M., Jin H.S. Effects of azithromycin on *Pseudomonas aeruginosa* isolates from catheter-associated urinary tract infection. *Exp. Ther. Med.*, 2015, vol. 9, no. 2, pp. 569–572. doi: 10.3892/etm.2014.2120
40. Yamaki S., Kawai Y., Yamazaki K. Long filamentous state of *Listeria monocytogenes* induced by sublethal sodium chloride stress poses risk of rapid increase in colony-forming units. *Food Control*, 2021, vol. 124: 107860. doi: 10.1016/j.foodcont.2020.107860

Авторы:

Масейкина А.А., соискатель кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии Медицинского института ФГБОУ ВО Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Россия;

Степаненко И.С., д.м.н., доцент, зав. кафедрой иммунологии, микробиологии и вирусологии с курсом клинической микробиологии ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Волгоград, Россия;

Платкова Т.Н., соискатель кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии Медицинского института ФГБОУ ВО Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Россия;

Кирютин А.И., соискатель кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии Медицинского института ФГБОУ ВО Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Россия;

Мальшева В.С., студентка Медицинского института ФГБОУ ВО Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Россия

Authors:

Maseykina A.A., PhD Student, Department of Immunology, Microbiology and Virology, Medical Institute, National Research Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russian Federation;

Stepanenko I.S., DSc (Medicine), Associate Professor, Head of the Department of Immunology, Microbiology and Virology, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russian Federation;

Platkova T.N., PhD Student, Department of Immunology, Microbiology and Virology, Medical Institute, National Research Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russian Federation;

Kiryutina A.I., PhD Student, Department of Immunology, Microbiology and Virology, Medical Institute, National Research Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russian Federation;

Malysheva V.S., Student of the Medical Institute, National Research Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russian Federation