JOURNAL OF MICROBIOLOGY, EPIDEMIOLOGY AND IMMUNOBIOLOGY. 2025; 102(4)
DOI: https://doi.org/10.36233/0372-9311-690
ORIGINAL RESEARCHES

Оригинальное исследование
https://doi.org/10.36233/0372-9311-690

Стабилизация растворов тигециклина при тестировании чувствительности микроорганизмов методом микроразведений в бульоне

Косилова И.С.✉, Домотенко Л.В., Храмов М.В.

Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Московская область, Россия

Аннотация

Введение. Тигециклин широко используется при лечении инфекций, что приводит к появлению устойчивых к нему бактерий. Определение чувствительности методом микроразведений в бульоне рекомендовано проводить, используя свежеприготовленный бульон Мюллера–Хинтон (МХБ) или МХБ с антиоксидантными добавками, что обусловлено окислением антибиотика. Вместе с тем отсутствует информация о возможности хранения и дальнейшего использования растворов антибиотика.

Цель исследования **—** определить возможность стабилизации и рационального использования растворов тигециклина для получения допустимых значений минимальных подавляющих концентраций (МПК) при тестировании контрольных штаммов референтным методом.

Материалы и методы. В работе определяли МПК тигециклина для *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 методом микроразведений в МХБ, заранее приготовленном и хранившемся 24–48 ч до исследования. Для исследования готовили базовый раствор тигециклина в воде и с добавлением различных концентраций оксиразы, которые хранили при 2–6°C и –70°C и затем проводили тестирование в соответствии с ГОСТ Р ИСО 20776-1-2022.

Результаты. В ходе исследования установлено, что при 2–6°C стабильность базовых растворов тигециклина сохраняется не более 5 ч, а с добавлением 5,0–8,0% оксиразы увеличивается до 16 сут, что позволяет получать значения МПК для всех тест-штаммов в допустимом диапазоне. Изменение температуры хранения до –70°C увеличивает стабильность растворов до 43 сут, а с добавлением 5,0–8,0% оксиразы — минимум до 48 нед.

Заключение. Определена возможность стабилизации растворов тигециклина, хранившихся при отрицательных температурах (с добавлением оксиразы и без неё) для получения допустимых значений МПК при определении чувствительности контрольных штаммов к антимикробным препаратам. Применение данных растворов позволило снизить затраты на тестирование за счёт рационального использования антибиотика.

Ключевые слова: *тигециклин, определение чувствительности, метод микроразведений в бульоне, оксираза, бульон Мюллера–Хинтон.*

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Косилова И.С., Домотенко Л.В., Храмов М.В. Стабилизация растворов тигециклина при тестировании чувствительности микроорганизмов методом микроразведений в бульоне. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2025;102(4):474–481.
DOI: https://doi.org/10.36233/0372-9311-690
EDN: https://www.elibrary.ru/YNTISP

Original Study Article
https://doi.org/10.36233/0372-9311-690

Stabilization of tigecycline solutions during susceptibility testing of microorganisms by broth microdilution method

Irina S. Kosilova✉, Lyubov V. Domotenko, Mikhail V. Khramov

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russia

© Косилова И.С., Домотенко Л.В., Храмов М.В., 2025

Abstract

Introduction. Tigecycline is widely used in the treatment of infections, leading to the emergence of resistant bacteria. Determining susceptibility by broth microdilution method is recommended to be conducted using freshly prepared Mueller–Hinton broth (MHB) or MHB with antioxidant additives, due to the oxidation of the antibiotic. At the same time, there is no information on the possibility of storing and further using antibiotic solutions.

The aim of the study is to determine the feasibility of stabilizing and rationally using tigecycline solutions to achieve acceptable values of minimum inhibitory concentrations (MIC) when testing control strains by the reference method.

Materials and methods. In the study, the MIC of tigecycline for *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, and *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 was determined using the microdilution method in MHB, which was pre-prepared and stored for 24–48 hours prior to the study. For the study, a tigecycline stock solution was prepared in water with the addition of various concentrations of Oxyrase, which were stored at 2–6°C and –70°C, and then testing was conducted in accordance with GOST R ISO 20776-1-2022.

Results. The stability of the tigecycline stock solutions does not exceed 5 hours at 2–6°C, but with the addition of 5.0–8.0% Oxyrase, it increases to 16 days, allowing for the determination of MIC values for all test strains within the acceptable range. Changing the storage temperature to –70°C increases the stability of the solutions to 43 days, and with the addition of 5.0–8.0% Oxyrase, to at least 48 weeks

Conclusion. The possibility of stabilizing tigecycline solutions stored at negative temperatures (with and without the addition of Oxyrase) has been determined to obtain acceptable MIC values when determining the susceptibility of control strains to antimicrobial agents. The use of these solutions allowed for a reduction in testing costs through the rational use of the antibiotic.

Keywords: *tigecycline, susceptibility testing, broth microdilution method, Oxyrase, Mueller–Hinton broth*

Funding source. The study was carried out within the Rospotrebnadzor industry program.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Kosilova I.S., Domotenko L.V., Khramov M.V. Stabilization of tigecycline solutions during susceptibility testing of microorganisms by broth microdilution method. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology.* 2025;102(4):474–481.
DOI: https://doi.org/10.36233/0372-9311-690
EDN: https://www.elibrary.ru/YNTISP

Введение

Микроорганизмы, устойчивые к антимикробным препаратам, являются одной из самых больших угроз для здравоохранения и продовольственной безопасности во всём мире [1]. Стремительный рост распространения грамотрицательных микроорганизмов, особенно относящихся к *Enterobacterales* и *Acinetobacter* spp., которые проявляют устойчивость к препаратам выбора карбапенемам, ставит под угрозу эффективность их применения. Для лечения инфекций, вызванных такими штаммами микроорганизмов, используют в основном колистин и тигециклин [2, 3]. Однако в настоящее время более чем в 40 странах, включая Россию, зафиксировано глобальное распространение резистентности у исследуемых штаммов к колистину, опосредованное геном *mcr* (mobilized colistin resistance), что значительно снижает его клиническую эффективность [4–7], поэтому тигециклин является критически важным для медицины препаратом[1], особенно при лечении инфекций, вызванных микроорганизмами с множественной лекарственной устойчивостью [8].

Тигециклин — антибиотик нового класса глицилциклинов, обладает широким спектром действия, структурно сходен с тетрациклинами, но более активен в отношении большинства грамположительных и грамотрицательных штаммов микроорганизмов. Однако некоторые бактерии, такие как *Morganella* spp., *Proteus* spp., *Providencia* spp. и *Pseudomonas aeruginosa*, проявляют природную устойчивость к тигециклину [9], описана пониженная чувствительность *A. baumannii* к нему [10], а у *Klebsiella pneumoniae, E. aerogenes*, *E. cloacae* и др. может развиться приобретённая устойчивость к тигециклину, обусловленная сверхэкспрессией гена неспецифичного активного выведения *ArcAB*, который обеспечивает резистентность ко многим лекарственным препаратам [11].

Для выбора и коррекции антибактериальной терапии рекомендуется проводить микробиологическую диагностику с идентификацией возбудителя и определением его чувствительности к тигециклину.

Референтным методом определения чувствительности является метод микроразведений в бульоне Мюллера–Хинтон (МХБ), позволяющий определять значения минимальных подавляющих концентраций (МПК) тестируемых антибиотиков. В ходе установления допустимых значений

[1] WHO. Critically important antimicrobials for human medicine (6th revision ed.) URL: https://www.who.int/publications/i/item/9789241515528 (дата обращения: 03.03.2025).

© Kosilova I.S., Domotenko L.V., Khramov M.V., 2025

JOURNAL OF MICROBIOLOGY, EPIDEMIOLOGY AND IMMUNOBIOLOGY. 2025; 102(4)
DOI: https://doi.org/10.36233/0372-9311-690

МПК тигециклина для контрольных штаммов были выявлены несоответствия в значениях МПК, которые были связаны со сроком хранения МХБ. Результаты ряда исследований показали, что при тестировании в свежеприготовленном (менее чем за 12 ч до начала тестирования) МХБ тигециклин был в 2–3 раза более активен в отношении 3 контрольных штаммов (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 и *Enterococcus faecalis* ATCC 29212), чем в хранившейся среде (МПК 0,03–0,25 и 0,12–0,50 мкг/мл соответственно) [12–14]. В связи с этим международными стандартами CLSI[2], EUCAST[3] и российскими рекомендациями[4] для определения значений МПК тигециклина с помощью метода микроразведений в бульоне рекомендовано использовать только свежеприготовленный МХБ.

Нестабильность тигециклина в водных растворах связана с его химическим строением, т. к. он может быть подвержен двум химических процессам, приводящим к образованию фармакологически неактивных продуктов. С одной стороны, фенольная группа тигециклина делает его чувствительным к окислению, особенно при значениях pH, превышающих значение 7,0, с другой стороны, при более низком значении pH тигециклин более подвержен неферментативной эпимеризации[5].

Для терапевтических целей тигециклин выпускается в виде лиофилизированного порошка[6], содержащего вспомогательные вещества в виде лактозы для стабилизации препарата против эпимеризации, и соляную кислоту или гидроксида натрия для регулирования pH в диапазоне 4,5–5,5 и для предотвращения окисления [10, 15].

Поскольку pH МХБ со временем не изменяется, причину расхождений в результатах МПК связывают с ускорением окислительного разложения тигециклина, вызванного увеличением количества растворённого кислорода в МХБ во время хранения. Для стабилизации тигециклина исследованы различные антиоксидантные добавки в МХБ: аскорбиновая кислота, пируват натрия, тиогликолят натрия, L-цистеин, каталаза, а также анаэробные условия хранения МХБ [12, 15, 16]. Добавление аскорбиновой кислоты и пирувата в концентрациях 0,3 и 6% соответственно способствовало стабилизации тигециклина до 7 дней. Однако в исследовании [16] показано, что аскорбиновая кислота вызывает быструю деградацию тигециклина и приводит к потере антибактериальной активности. В ряде публикаций исследована возможность использования оксиразы — фермента, способствующего снижению концентрации кислорода в МХБ [12, 14, 16]. Результаты исследований показали сохранение активности тигециклина в 2% растворе оксиразы вплоть до 7 сут при 4–6°C.

В исследовании [12] описано применение замораживания при –20°C МХБ, содержащего тигециклин и разлитого в 96-луночные планшеты. Тестирование чувствительности тест-штаммов после размораживания показало, что активность антибиотика сохранялась до 6 нед, и результаты тестирования совпадали с данными, полученными со свежеприготовленным МХБ.

Анализ публикаций показал, что в исследованиях все манипуляции (антиоксидантные добавки, хранение в замороженном состоянии, в анаэробных условиях) проводили с МХБ, поэтому представляется важным изучение возможности хранения именно водных растворов антибиотика.

В соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 20776-1-2022[7], который регламентирует процедуру выполнения метода микроразведений в бульоне, для тестирования используют базовые (основные) растворы антибиотиков, часть объёма которых, как правило, остаётся недоиспользованной. Требованиями ГОСТ Р ИСО 20776-1-2022 разрешено хранение стабильных растворов антибиотиков, а хранение нестабильных, к которым относятся водные растворы тигециклина, никак не регламентируется. Только уточняется, что если нет информации о стабильности растворов при определённых условиях хранения, то свежий базовый (основной) раствор следует готовить для каждой исследуемой партии.

Цель исследования — определить возможность стабилизации и рационального использования растворов тигециклина для получения допусти-

[2] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Thirty-third Informational Supplement. CLSI document M100, 33rd Edition. USA; 2022. 402 p.

[3] European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters (Version 15.0). URL.: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_15.0_Breakpoint_Tables.pdf (дата обращения: 12.03.2025).

[4] Российские рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (версия 2024-02). URL: https://www.antibiotic.ru/files/334/ocmap2024.pdf

[5] Fawzi M.B., Zhu T., Shah S.M. Tigecycline compositions and methods of preparation (patent). United States US-8975242-B2. 2011. URL.: https://patentimages.storage.googleapis.com/c2/25/07/73a12f6c15cdfa/US8975242.pdf (дата обращения: 07.03.2025).

[6] Справочник лекарственных средств. Тигацил. Инструкция по применению. 2024. URL: https://www.vidal.ru/drugs/tigacil__23094 (дата обращения 12.03.2025).

[7] ГОСТ Р ИСО 20776-1-2022 Исследование чувствительности инфекционных агентов и оценка функциональных характеристик изделий для исследования чувствительности к антимикробным средствам. Часть 1. Референтный метод микроразведений в бульоне для лабораторного исследования активности антимикробных агентов по отношению к быстрорастущим аэробным бактериям, вызывающим инфекционные заболевания. 2022, 20 с.

мых значений МПК при тестировании контрольных штаммов референтным методом.

Материалы и методы

В работе использовали химические субстанции тигециклина («Sigma») и оксиразы («Sigma»). Определение значений МПК тигециклина для контрольных (тест-штаммов) *E. coli* АТСС 25922, *S. aureus* АТСС 29213, *E. faecalis* АТСС 29212, *Streptococcus pneumoniae* АТСС 49619 проводили методом микроразведений в МХБ (ГНЦ ПМБ), который заранее готовили и хранили 24–48 ч до исследования при комнатной температуре. При работе с тест-штаммом *S. pneumoniae* АТСС 49619 в бульон добавляли 5% лизированной лошадиной крови и 20 мг/л β-NAD («Sigma»). Все использованные в работе штаммы получены в лиофилизированном виде из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов ГКПМ-Оболенск.

Лизированную лошадиную кровь готовили из дефибринированной («ЭКОлаб»). Для этого в дефибринированную лошадиную кровь добавляли стерильную деионизированную воду в соотношении 1 : 1, помещали в морозильную камеру на 7–8 ч при –20°С. Затем размороженную при комнатной температуре кровь повторно подвергали замораживанию–оттаиванию, повторяя данный цикл 4 раза до полного лизиса кровяных клеток. После этого лизированную лошадиную кровь осветляли центрифугированием при 7000 об/с в течение 30 мин на центрифуге «Eppendorf Centrifuge 5702» («Eppendorf»).

Тестирование проводили в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 20776-1-2022 в 3 повторностях. Для этого готовили базовый (основной) раствор тигециклина с концентрацией 512 мг/л в воде и в воде с добавлением различных концентраций оксиразы (2,0, 3,0, 5,0 и 8,0%), хранили при 2–6°С в бытовом холодильнике и при –70°С в низкотемпературном кельвинаторе «MDF-U33V» («Sanyo»). Через каждый час отдельные аликвоты раствора вынимали из камеры хранения, размораживали при комнатной температуре в течение 20–30 мин, готовили рабочие (двукратные) разведения в дистиллированной воде в диапазоне концентраций 0,016–1,000 мг/л и заполняли ими 96-луночный планшет.

Инокуляты всех тест-штаммов готовили в физиологическом растворе с концентрацией 1–2 × 10^8 КОЕ/мл и по 0,1 мл добавляли в 9,9 мл МХБ с двойной концентрацией. Инокуляты в МХБ вносили в соотношении 1 : 1 в подготовленные планшеты, которые инкубировали при 35 ± 1°С в течение 18 ± 2 ч, планшеты с *S. pneumoniae* АТСС 49619 — в атмосфере 4–6% CO_2. Учёт результатов проводили по методологии EUCAST.

Результаты обрабатывали при помощи пакета программ «MS Excel». Достоверность различных средних величин оценивали с использованием t-критерия Стьюдента. Для сравнительного анализа использовали двусторонний критерий Фишера. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

МПК тигециклина для всех тест-штаммов при использовании базовых растворов, хранившихся при 2–6°С до 3 ч, соответствовали целевым значениям, а при дальнейшем хранении до 5 ч — входили в допустимый интервал (**табл. 1**). Далее с увеличением времени хранения значения МПК превышали допустимый интервал.

Величина МПК тигециклина для всех тест-штаммов при использовании базовых растворов антибиотика, хранившихся при –70°С до 31 сут, соответствовала целевым значениям, при дальнейшем хранении до 43 сут — входила в допустимые интервалы (**табл. 2**). Более длительное хранение (≥ 44 сут) приводило к получению значений МПК для всех 4 тест-штаммов, превышающих допустимые диапазоны.

Таблица 1. Влияние времени хранения при 2–6°С базового раствора тигециклина на величину МПК, мг/л

Время хранения базового (основного) раствора тигециклина	*E. coli* АТСС 25922	*S. aureus* АТСС 29213	*E. faecalis* АТСС 29212	*S. pneumoniae* АТСС 49619
0 ч (контроль)	0,06–0,12	0,06–0,12	0,03–0,06	0,03–0,06
1–2 ч	0,06–0,12	0,06–0,12	0,03–0,06	0,03–0,06
3 ч	0,06–0,12	0,06–0,12	0,03–0,06	0,03–0,06
4 ч	0,12–0,25	0,12–0,25	0,03–0,12	0,06–0,12
5 ч	0,12–0,25	0,12–0,25	0,06–0,12	0,06–0,12
6 ч	0,5–1,0	0,5–1,0	0,5–1,0	0,5–1,0
7 ч	0,5–1,0	0,5–1,0	0,5–1,0	0,5–1,0
8–10 ч	≥ 1,0	≥ 1,0	≥ 1,0	≥ 1,0
Допустимый интервал, мг/л	0,03–0,25	0,03–0,25	0,03–0,12	0,016–0,12
Целевые значения, мг/л	0,06–0,12	0,06–0,12	0,06	0,03–0,06

JOURNAL OF MICROBIOLOGY, EPIDEMIOLOGY AND IMMUNOBIOLOGY. 2025; 102(4)
DOI: https://doi.org/10.36233/0372-9311-690

Таблица 2. Влияние времени хранения при –70°С базовых растворов тигециклина на значение МПК, мг/л

Время хранения растворов тигециклина, сут	*E. coli* ATCC 25922	*S. aureus* ATCC 29213	*E. faecalis* ATCC 29212	*S. pneumoniae* ATCC 49619
1–18	0,06–0,12	0,06–0,12	0,03–0,06	0,03–0,06
19–31	0,06–0,12	0,06–0,12	0,03–0,06	0,03–0,06
32–43	0,12–0,25	0,12–0,25	0,06–0,12	0,06–0,12
44–56	0,5–1,0	0,5–1,0	0,25–0,50	0,25–0,50
57–68	0,5–1,0	0,5–1,0	0,25–0,50	0,25–0,50
69–80	0,5–1,0	0,5–1,0	0,5–1,0	0,5–1,0
≥ 81	≥ 1,0	≥ 1,0	≥ 1,0	≥ 1,0
Допустимый интервал, мг/л	0,03–0,25	0,03–0,25	0,03–0,12	0,016–0,120
Целевые значения, мг/л	0,06–0,12	0,06–0,12	0,06	0,03–0,06

Результаты, полученные на первом этапе исследования, показали, что активность базовых растворов тигециклина сохранялась более длительное время при –70°С (до 43 сут), чем при 2–6°С (не более 5 ч), что обеспечивало получение МПК тигециклина для всех тест-штаммов в допустимых интервалах значений.

Второй этап исследования посвящен изучению влияния добавки оксиразы на величину МПК тигециклина для 4 тест-штаммов. Увеличение концентрации оксиразы способствовало более длительному хранению базовых растворов тигециклина при –2–6°С по сравнению с растворами без стабилизатора, т. к. полученные значения МПК для исследованных тест-штаммов соответствовали допустимым значениям более длительное время (**рисунок**, **табл. 3**). Добавление оксиразы в концентрациях 5 и 8% к базовому раствору тигециклина увеличивало время его хранения при 2–6°С с 4–5 ч до 16 сут и обеспечивало получение допустимых значений МПК для 4 тест-штаммов.

Результаты измерений МПК тигециклина для тест-штаммов, полученные с помощью стабилизированных оксиразой базовых растворов антибиотика в процессе хранения при –70°С, приведены в **табл. 4**. Для удобства результаты МПК представлены в условных единицах: средние значения МПК из 3 измерений, входящие в допустимый интервал, обозначали «С» (Correct); средние значения из 3 измерений, превышающие допустимый интервал, обозначали «НЕ» (High error).

Как видно из табл. 4, использование оксиразы в качестве стабилизатора базовых растворов тигециклина показало, что стабильность данных растворов сохраняется до 18 нед при добавлении 2% оксиразы, до 28 нед при добавлении 3% оксиразы, до 48 нед при добавлении 5 или 8% оксиразы и приводит к получению значений МПК тигециклина для всех исследованных тест-штаммов, соответствующих допустимым величинам (С).

Обсуждение

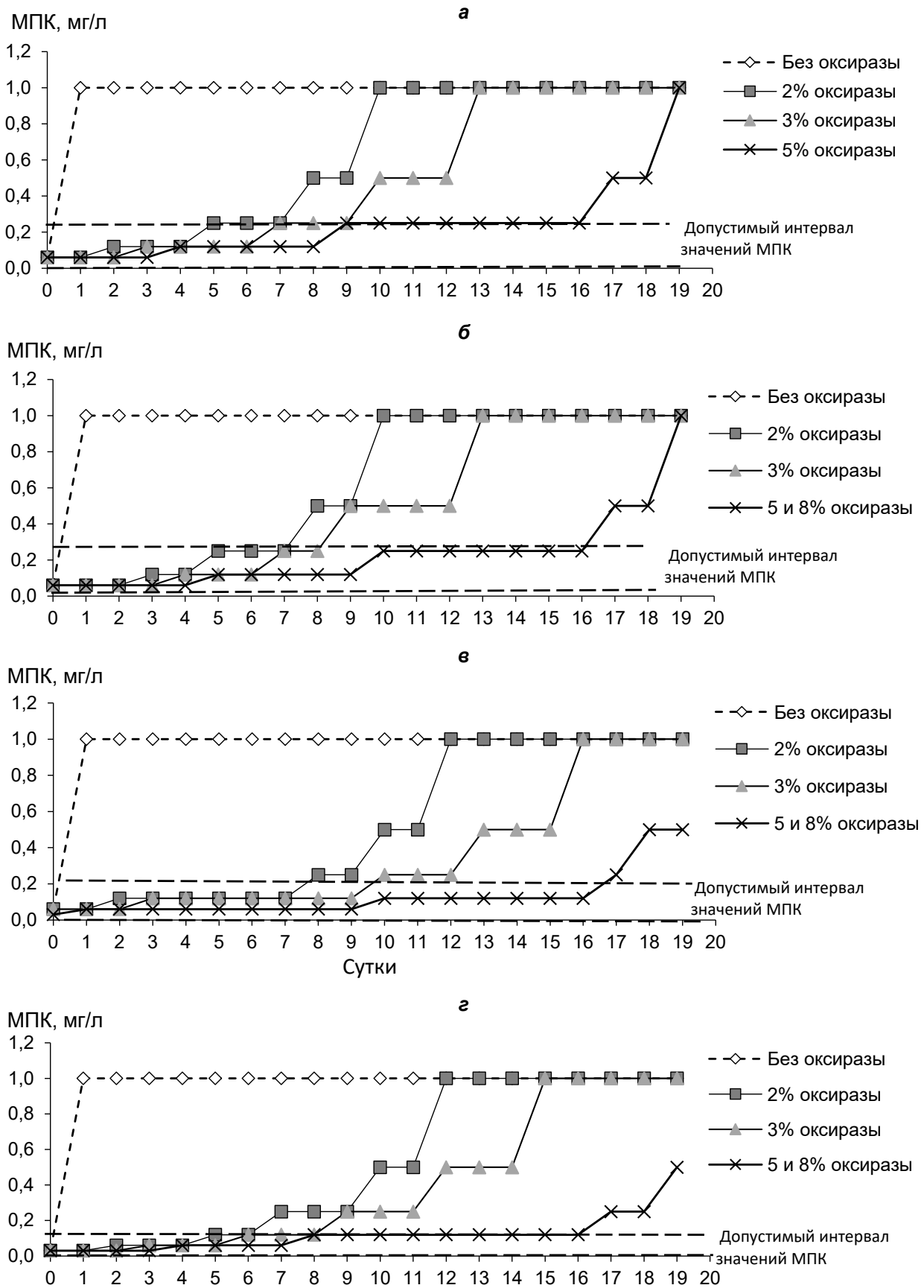
В настоящее время тигециклин является препаратом выбора при лечении многих тяжёлых инфекций, вызванных микроорганизмами с множественной лекарственной устойчивостью. Из-за своей антибактериальной активности широкого спектра действия тигециклин часто применяют эмпирически, что приводит к появлению устойчивых к нему бактерий [17].

Поэтому лечение инфекционных болезней, в том числе тигециклином, целесообразно проводить на основе результатов идентификации возбудителя и определения чувствительности к антимикробным препаратам.

Определение чувствительности к тигециклину методом микроразведений в бульоне сопряжено с проблемой, связанной с его нестабильностью в водных растворах. Для получения достоверных результатов тестирования стандартами CLSI и EUCAST предложено использовать свежеприготовленный МХБ.

В данном исследовании изучено влияние различных способов стабилизации базовых водных растворов тигециклина: с помощью изменения температуры хранения и использования стабилизатора оксиразы в различных концентрациях для 4 тест-штаммов, включая тест-штамм со сложными питательными потребностями — *S. pneumoniae* ATCC 49619.

В ходе исследования использован заранее приготовленный МХБ и хранившийся в течение 24–48 ч. Определено, что при 2–6°С стабильность базовых растворов тигециклина без оксиразы сохраняется не более 5 ч, а с 5 и 8% оксиразы увеличивается до 16 сут. При хранении данных растворов без оксиразы при –70°С их стабильность увеличивается до 43 сут, а с добавлением 5 и 8% оксиразы — минимум до 48 нед. Полученные результаты коррелируются с опубликованными данными [12, 14, 16], в которых показано, что активность тигециклина



Зависимость значений МПК тигециклина для *E. coli* ATCC 25922 (*а*), *S. aureus* ATCC 29213 (*б*), *E. faecalis* ATCC 29212 (*в*) и *S. pneumoniae* ATCC 49619 (*г*) от концентрации оксиразы, добавленной в базовые растворы антибиотика, и сроков их хранения при 2–6°C.

JOURNAL OF MICROBIOLOGY, EPIDEMIOLOGY AND IMMUNOBIOLOGY. 2025; 102(4)
DOI: https://doi.org/10.36233/0372-9311-690

Таблица 3. Сроки хранения при 2–6°С базовых растворов тигециклина при различных концентрациях оксиразы, обеспечивающие получение допустимых значений МПК, сут

Тест-штаммы	Без оксиразы	Концентрация оксиразы, %			
		2	3	5	8
E. coli ATCC 25922	5 ч	7	9	16	16
S. aureus ATCC 29213	5 ч	7	8	16	16
E. faecalis ATCC 29212	4 ч	7	9	16	16
S. pneumoniae ATCC 49619	5 ч	6	8	16	16

Таблица 4. Зависимость условных значений МПК тигециклина для тест-штаммов от концентрации оксиразы в базовых растворах антибиотика и сроков их хранения при –70°С

Срок хранения базовых растворов, нед	*E. coli* ATCC 25922				*S. aureus* ATCC 29213				*E. faecalis* ATCC 29212				*S. pneumoniae* ATCC 49619			
	2%	3%	5%	8%	2%	3%	5%	8%	2%	3%	5%	8%	2%	3%	5%	8%
0	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
12	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
18	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
28	НЕ	C	C	C	НЕ	C	C	C	НЕ	C	C	C	НЕ	C	C	C
48	НЕ	НЕ	C	C	НЕ	НЕ	C	C	НЕ	НЕ	C	C	НЕ	НЕ	C	C

в МХБ сохраняется до 6 нед (42 сут) при –17–18°С, а при 4–6°С с добавлением 2% растворов оксиразы — до 7 сут (табл. 3).

В ряде публикаций авторы отмечают, что оксираза и химически чистая субстанция тигециклина — достаточно дорогостоящие продукты [12–14]. Проведённые нами расчёты затрат показали, что из 5 мг химически чистой субстанции тигециклина (по цене в среднем 45 000 руб./5 мг) можно приготовить более 200 планшетов с рабочим диапазоном концентраций тигециклина (0,06–4,00) мг/л. При этом затраты на приготовление одного планшета составят около 270 руб. (с учётом стоимости самого планшета)[8]. Метод микроразведений в бульоне является трудоёмким процессом, поэтому не каждая бактериологическая лаборатория может использовать за один опыт такое количество планшетов. Неиспользованный базовый раствор тигециклина можно разлить по аликвотам в криопробирки и хранить при отрицательных температурах до следующего использования, а дополнительное введение оксиразы позволит еще увеличить время хранения и возможность использования хранившегося 24–48 ч МХБ. Стоимость того же количества планшетов с добавлением 5% оксиразы увеличивается незначительно (в среднем на 7–10%).

[8] Merck — электронный каталог химических веществ, реагентов, расходных материалов для научных исследований и промышленности. URL: https://www.sigmaaldrich.com/RU/en/search/pz0021-5mg?focus=products&page=1&perpage=30&sort=relevance&term=PZ0021-5MG&type=product (дата обращения: 10.03.2025).

Заключение

Определена возможность стабилизации растворов тигециклина, хранившихся при отрицательных температурах (с добавлением оксиразы и без неё), для получения допустимых значений МПК при определении чувствительности контрольных штаммов к антимикробным препаратам. Применение данных растворов позволило снизить затраты на тестирование за счет рационального использования антибиотика. В дальнейшем будут продолжены работы по изучению возможности использования данных растворов тигециклина при тестировании клинических штаммов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Laxminarayan R., Sridhar D., Blaser M., et al. Achieving global targets for antimicrobial resistance. *Science*. 2016; 353(6302): 874–9. DOI: https://doi.org/10.1126/science.aaf9286
2. Karageorgopoulos D.E., Falagas M.E. Current control and treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *Lancet Infect. Dis*. 2008;8(12):751–62. DOI: https://doi.org/10.1016/s1473-3099(08)70279-2
3. Rodríguez-Baño J., Gutiérrez-Gutiérrez B., Machuca I., et al. Treatment of infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-, AmpC-, and carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Clin. Microbiol. Rev.* 2018;31(2):e00079-17. DOI: https://doi.org/10.1128/cmr.00079-17
4. IACG Discussion Paper. Interagency Coordination Group on Antimicrobial Resistance. Reduce unintentional exposure and the need for antimicrobials, and optimize their use;2018.
5. Шедько Е.Д., Тимошина О.Ю., Азизов И.С. Молекулярная эпидемиология генов группы mcr. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2020;22(4): 287–300. Shedko E.D., Timoshina O.Yu., Azizov I.S. Molecular epidemiology of mcr group genes. *Clinical Microbiology and Anti-*

microbial Chemotherapy. 2020;22(4):287–300. DOI: https://doi.org/10.36488/cmac.2020.4.287-300 EDN: https://elibrary.ru/ycsxgu
6. Partridge S.R., Pilato V.D., Doi Y., et al. Proposal for assignment of allele numbers for mobile colistin resistance (mcr) genes. *J. Antimicrob. Chemother.* 2018;73(10):2625–30. DOI: https://doi.org/10.1093/jac/dky262
7. Cheng Y., Li Y., Yu R., et al. Identification of novel tet(X3) variants resistant to tigecycline in *Acinetobacter* species. *Microbiol. Spectr*. 2022;10(6):e0133322. DOI: https://doi.org/10.1128/spectrum.01333-22
8. Tasina E., Haidich A.B., Kokkali S., et al. Efficacy and safety of tigecycline for the treatment of infectious diseases: a meta-analysis. *Lancet Infect. Dis*. 2011;11(11): 834–44. DOI: https://doi.org/10.1016/s1473-3099(11)70177-3
9. Korczak L., Majewski P., Iwaniuk D., et al. Molecular mechanisms of tigecycline-resistance among *Enterobacterales*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2024;14:1289396. DOI: https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1289396
10. He T., Wang R., Liu D., et al. Emergence of plasmid-mediated high-level tigecycline resistance genes in animals and humans. *Nat. Microbiol.* 2019;4(9):1450–6. DOI: https://doi.org/10.1038/s41564-019-0445-2
11. Liu C., Liu J., Lu Q., et al. The mechanism of tigecycline resistance in *Acinetobacter baumannii* under sub-minimal inhibitory concentrations of tigecycline. *Int. J. Mol. Sci*. 2024;25(3):1819. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms25031819
12. Bradford P.A., Petersen P.J., Young M., et al. Tigecycline MIC testing by broth dilution requires use of fresh medium or addition of the biocatalytic oxygen-reducing reagent Oxyrase to standardize the test method. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2005;49(9):3903–9. DOI: https://doi.org/10.1128/aac.49.9.3903-3909.2005
13. Brown S.D., Traczewski M.M. Comparative *in vitro* antimicrobial activity of tigecycline, a new glycylcycline compound, in freshly prepared medium and quality control. *J. Clin. Microbiol.* 2007;45(7):2173–9. DOI: https://doi.org/10.1128/jcm.02351-06
14. Petersen P.J., Bradford P.A. Effect of medium age and supplementation with the biocatalytic oxygen-reducing reagent Oxyrase on *in vitro* activities of tigecycline against recent clinical isolates. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2005;49(9):3910–8. DOI: https://doi.org/10.1128/aac.49.9.3910-3918.2005
15. Jitkova Y., Gronda M., Hurren R., et al. A novel formulation of tigecycline has enhanced stability and sustained antibacterial and antileukemic activity. *PLoS One*. 2014;9(5):e95281. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095281
16. Amann L.F., Vicente E.R., Rathke M., et al. Stability studies with tigecycline in bacterial growth medium and impact of stabilizing agents. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2021;40(1):215–8. DOI: https://doi.org/10.1007/s10096-020-03970-0
17. Zhou H., Sun X., Lyu S., et al. Evaluation of tigecycline utilization and trends in antibacterial resistance from 2018 to 2021 in a comprehensive teaching hospital in China. *Infect. Drug Resist.* 2023;16:879–89. DOI: https://doi.org/10.2147/idr.s395158

Информация об авторах

Косилова Ирина Сергеевна✉ — канд. биол. наук, с. н. с. лаб. разработки питательных сред ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Московская обл., Россия, kosilova.irina@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-4020-0894

Домотенко Любовь Викторовна — канд. хим. наук, в. н. с. лаб. разработки питательных сред ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Московская обл., Россия, domotenko@obolensk.org, https://orcid.org/0000-0002-4785-6418

Храмов Михаил Владимирович — канд. мед. наук, зам. директора по качеству и развитию ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Московская обл., Россия, khramov@obolensk.org, https://orcid.org/0000-0002-4553-3826

Участие авторов: *Косилова И.С.* — проведение экспериментов, анализ и обобщение полученных данных, работа с источниками литературы, статистическая обработка материала, написание текста статьи; *Домотенко Л.В.* — концепция и дизайн исследования, сбор материала, статистическая обработка материала, работа с источниками литературы, написание текста статьи; *Храмов М.В.* — концепция и дизайн исследования, редактирование. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям Международного комитета редакторов медицинских журналов, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 07.05.2025;
принята к публикации 16.07.2025;
опубликована 28.08.2025

Information about the authors

Irina S. Kosilova✉ — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Nutrient medium development laboratory, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russia, kosilova.irina@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-4020-0894

Lyubov V. Domotenko — Cand. Sci. (Chem.), leading researcher, Nutrient medium development laboratory, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russia, domotenko@obolensk.org, https://orcid.org/0000-0002-4785-6418

Mikhail V. Khramov — Cand. Sci. (Med.), Deputy director for quality and development, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russia, khramov@obolensk.org, https://orcid.org/0000-0002-4553-3826

Authors' contribution: *Kosilova I.S.* — conducting experiments, analyzing and summarizing the data obtained, working with literature sources, statistical processing of the material, writing the text of the article; *Domotenko L.V.* — concept and design of the study, collecting material, statistical processing of the material, working with literature sources, writing the text of the article; *Khramov M.V.* — concept and design of the study, editing. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the article, acquisition, analysis, interpretation of data for the article, drafting and revising the article, final approval of the version to be published.

The article was submitted 07.05.2025;
accepted for publication 16.07.2025;
published 28.08.2025