



Подавление образования биоплёнок и выживания в эпителиальных клетках клинических изолятов уропатогенов при действии препарата Fluorothiazinone *in vitro*

Капотина Л.Н.¹, Моргунова Е.Ю.¹, Нелюбина С.А.¹, Федина Е.Д.¹,
Королёва Е.А.¹, Бондарева Н.Е.¹, Перепанова Т.С.², Зигангирова Н.А.^{1✉}

¹Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия;

²Научно-исследовательский институт урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина — филиал НМИЦ радиологии, Москва, Россия

Аннотация

Целью данного исследования было изучение влияния инновационного отечественного антибактериального препарата Fluorothiazinone, ингибитора системы секреции III типа и функционирования жгутика, на вирулентные свойства возбудителей инфекций мочевыводящих путей (ИМП).

Материалы и методы. Клинические изоляты видов *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* были получены от 4 пациентов с рецидивирующими инфекциями ИМП. Анализ цитотоксичности проводили на клетках HeLa с помощью набора «CytoTox 96». Жгутиковую подвижность бактерий оценивали в 0,25% агаре с измерением зоны подвижности. Биоплёнки культивировали в 96-луночных планшетах и окрашивали кристаллическим фиолетовым и Конго красным, оценивали структуру биоплёнок при микроскопировании и проводили количественную оценку бактериальной биоплёнки и экзополисахаридного матрикса при измерении оптической плотности связавшегося с биоплёнкой красителя. Внутриклеточное развитие изучали на клетках РС-3 при определении количества внутриклеточных бактерий методом высева лизатов клеток и иммунохимическим методом при окраске бактерий специфическими антителами.

Результаты. Препарат Fluorothiazinone специфически подавлял цитотоксичность и подвижность *E. coli* и *P. aeruginosa*. Для *K. pneumoniae* наблюдали чувствительность к препарату Fluorothiazinone, связанную с подавлением цитотоксичности. Для всех изученных изолятов было показано ингибирование образования биоплёнок на абиотической поверхности. Для *E. coli* и *K. pneumoniae* выявили достоверное снижение внутриклеточного размножения в клетках аденокарциномы простаты человека и подавление формирования внутриклеточных бактериальных сообществ.

Заключение. Препарат Fluorothiazinone нарушает механизмы, способствующие установлению персистенции патогенов при формировании хронических ИМП, среди которых образование биоплёнок на абиотических поверхностях, таких как катетеры, стенты, дренажи, и формирование внутриклеточных бактериальных сообществ и покоящихся внутриклеточных резервуаров.

Ключевые слова: Fluorothiazinone, кишечная палочка, синегнойная палочка, клебсиелла, антибиотики, инфекционные заболевания, внутриклеточные бактериальные сообщества, инфекции мочевыводящих путей, биоплёнки, жгутик, цитотоксичность

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном письменном согласии пациентов. Протокол клинического исследования № 07-ФТ-2024, РКИ № 513 от 30.10.2024.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

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

Для цитирования: Капотина Л.Н., Моргунова Е.Ю., Нелюбина С.А., Федина Е.Д., Королёва Е.А., Бондарева Н.Е., Перепанова Т.С., Зигангирова Н.А. Подавление образования биоплёнок и выживания в эпителиальных клетках клинических изолятов уропатогенов при действии препарата Fluorothiazinone *in vitro*. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2025;102(5):547–559.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-723>
EDN: <https://www.elibrary.ru/KFAYZJ>

Original Study Article
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-723>

Suppression of biofilm formation and survival of clinical isolates of uropathogens within epithelial cells under the effect of Fluorothiazinone *in vitro*

Lydiya N. Kapotina¹, Elena Yu. Morgunova¹, Stanislava A. Nelyubina¹, Elena D. Fedina¹, Ekaterina A. Koroleva¹, Nataliya E. Bondareva¹, Tamara S. Perepanova², Naylia A. Zigangirova^{1✉}

¹National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia;

²N. Lopatkin Scientific Research Institute of Urology and Interventional Radiology — the branch of the National Medical Research Radiological Center, Moscow, Russia

Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of the innovative Russian antibacterial drug Fluorothiazinone, an inhibitor of the type III secretion system and flagellar function, on the virulence properties of urinary tract infection (UTI) pathogens.

Materials and methods. Clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Pseudomonas aeruginosa* species were obtained from 4 patients with recurrent UTI. Cytotoxicity analysis was performed on HeLa cells using the CytoTox 96 kit. Bacterial flagellar motility was assessed in 0.25% agar by measuring the zone of motility. Biofilms were cultivated in 96-well plates and stained with crystal violet and Congo red. Biofilm structure was assessed by microscopy, and the bacterial biofilm and exopolysaccharide matrix were quantified by measuring the optical density of the dye bound to the biofilm. Intracellular development was studied in PC-3 cells by determining the number of intracellular bacteria using a cell lysate plating method and an immunochemical method involving staining the bacteria with specific antibodies.

Results. The Fluorothiazinone antibacterial specifically inhibited the cytotoxicity and motility of *E. coli* and *P. aeruginosa*. For *K. pneumoniae*, susceptibility to Fluorothiazinone was observed, associated with the suppression of cytotoxicity. For all the isolates studied, inhibition of biofilm formation on an abiotic surface was demonstrated. For *E. coli* and *K. pneumoniae*, a significant decrease in intracellular replication within human prostate adenocarcinoma cells and suppression of intracellular bacterial community formation were observed.

Conclusion. Fluorothiazinone disrupts mechanisms that contribute to pathogen persistence in the formation of chronic UTI, including biofilm formation on abiotic surfaces such as catheters, stents, and drains, and the formation of intracellular bacterial communities and dormant intracellular reservoirs.

Keywords: Fluorothiazinone, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*, antibiotics, infectious diseases, intracellular bacterial communities, urinary tract infections, biofilms, flagellum, cytotoxicity

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol of a clinical trial No. 07-FT-2024, RCT No. 513 dated 10/30/2024.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

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

For citation: Kapotina L.N., Morgunova E.Yu., Nelyubina S.A., Fedina E.D., Koroleva E.A., Bondareva N.E., Perepanova T.S., Zigangirova N.A. Suppression of biofilm formation and survival of clinical isolates of uropathogens within epithelial cells under the effect of Fluorothiazinone *in vitro*. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2025;102(5):547–559.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-723>
EDN: <https://www.elibrary.ru/KFAYZJ>

Введение

Рецидивы инфекции мочевыводящих путей (ИМП) характеризуются повторным возникновением острой бактериальной инфекции, вызванной тем же возбудителем. Обычно рецидивирующие ИМП (рИМП) определяются как 2 и более случая неосложнённой ИМП за последние 6 мес или 3 случая и более за 12 мес [1–4]. Ежегодно от рИМП страдают 5–10% взрослых женщин [5], что влияет

на затраты по лечению и снижает качество жизни, особенно с учётом того, что более чем у 60% женщин ИМП диагностируется хотя бы раз в жизни [6, 7]. Возбудителем большинства ИМП является уропатогенная *Escherichia coli* (УРЕС) [8–10]. Однако на 2-е место среди этиологических агентов рИМП в последнее время выходит *Klebsiella pneumoniae* [11, 12]. Эта грамотрицательная бактерия стала распространённым патогеном, ответственным как за

внебольничные, так и за внутрибольничные ИМП, особенно у лиц с факторами риска развития инфекции, ослабленным иммунитетом и хроническими сопутствующими заболеваниями [13–15].

Для возбудителей ИМП характерен достаточно сложный механизм развития инфекции в мочевом пузыре, когда бактерии после адгезии к рецепторам слизистой оболочки мочевого пузыря вызывают воспалительную реакцию и проникают в уротелий, образуя внутриклеточные бактериальные сообщества (ВБС) [16, 17]. Внутриклеточные UPEC проходят несколько стадий в своем развитии: инвазия, формирование ВБС, созревание ВБС и формирование покоящихся внутриклеточных резервуаров. ВБС представляет собой транзитное бактериальное состояние, которое сохраняется до тех пор, пока бактерии не размножатся и не выйдут из клеток хозяина. Покоящиеся внутриклеточные резервуары формируются в более глубоких слоях уротелия. Бактерии, способные образовывать ВБС и покоящиеся внутриклеточные резервуары, могут уклоняться от фагоцитоза, выживать внутри клеток хозяина, защищенные от воздействия антибиотиков и иммунных факторов. Они образуют резервуары персистирующих патогенов в мочевыводящих путях и периодически вызывают рИМП.

Одним из значимых факторов при развитии рИМП является катетеризация мочевого пузыря. На долю катетер-ассоциированных инфекций приходится до 40% всех внутрибольничных инфекций [18]. Риск инфекции при кратковременной катетеризации (до 7 дней) составляет до 10% и возрастает на 3–7% каждый день продолжения катетеризации [19]. При длительной катетеризации (более 30 дней) бактериурия развивается почти у 100% пациентов [18]. У пациентов с катетер-ассоциированными ИМП образование биопленок на поверхностях катетеров, стентов, дренажей и т. п. является фактором развития уросепсиса и приводит к значительным осложнениям течения инфекции и неэффективности лечения [20].

рИМП во многом также связаны с ростом антибиотикорезистентности уропатогенов. Антибиотики остаются основой лечения и профилактики рИМП — около 25% рецептов на антибиотики выдаются при ИМП [21]. Более широкое использование антибиотиков во всем мире и длительное использование антибиотиков в профилактических целях или частое применение комбинаций различных антибиотиков у пациентов с рИМП могут способствовать развитию дальнейшей резистентности. Накопление устойчивых форм бактерий может развиваться в течение нескольких недель. Так, *E. coli*, устойчивая по меньшей мере к 4 антибиотикам, была идентифицирована в фекальных изолятах более чем у 90% пациентов, получавших профилактическое лечение низкими дозами антибиотиков в течение 2 нед [22].

Выявление особенностей сложного взаимодействия уропатогенов с организмом хозяина необходимо как для более глубокого понимания патогенеза рИМП, так и для выбора новых подходов лечения этих широко распространенных бактериальных инфекций.

Цель работы — изучить действие инновационного отечественного антибактериального препарата Fluorothiazinone (ФТ; НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, РУ ЛП-№(005077)-(РГ-RU)) на вирулентные свойства изолятов, полученных из мочи пациентов с хроническими ИМП.

Материалы и методы

Бактериальные изоляты

Клинические изоляты *K. pneumoniae* 5811, 5672, *Pseudomonas aeruginosa* 5595, *E. coli* 5424/1 были выделены из мочи 4 взрослых пациентов обоего пола разных возрастных групп, госпитализированных в НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина — филиал НМИЦ радиологии Минздрава России с клиническими признаками ИМП. Изоляты из мочи были собраны в рамках проведения клинического исследования по Протоколу 07-ФТ-2024, РКИ № 513 от 30.10.2024 г.

Культивирование бактерий

Видовую принадлежность бактерий подтверждали с помощью высевов на плотные питательные среды: LB-агар («BD Difco»), цетримидный агар («HiMedia») с последующим анализом белкового профиля единичных колоний на приборе «Bruker MALDI Biotyper» («Beckman Coulter Diagnostics»).

Клинические уропатогенные изоляты выращивали в течение 18 ч при 37°C в бульоне Лурия–Бертани (LB-бульоне) с непрерывной аэрацией на шейкере (240 об/мин) до концентрации 10^9 микробных клеток/мл, что оценивали по стандарту МакФарланда на денситометре «Densi-La-Meter II» («ERBA Lachema»). Полученную бактериальную суспензию разводили до нужных концентраций в свежем LB-бульоне.

Исследуемый препарат

В работе использовали активную фармацевтическую субстанцию ФТ.

Для изучения действия ФТ на подвижность и формирование биопленок клиническими изолятами использовали исходный раствор с концентрацией 2 мг/мл в 0,3 М CH_3COONa буфере pH $7,0 \pm 0,2$. Раствор готовили следующим образом: к навеске субстанции ФТ массой 0,021 г добавляли раствор из 0,120 г гидроксида натрия в 10 мл дистиллированной воды. Далее смесь перемешивали на магнитной мешалке до полного растворения кристаллов ФТ, подкисляли ледяной уксусной кислотой до pH 7–8.

Образовавшийся раствор фильтровали через шприцевую насадку 0,22 мкм в стерильную пробирку. В тестах использовали препарат в конечной концентрации 100 мкг/мл.

Для изучения цитотоксичности и внутриклеточного выживания бактерий использовали раствор ФТ в диметилсульфоксиде в концентрации 10 мг/мл, конечная концентрация ФТ в среде составила 20 мкг/мл.

Анализ цитотоксичности

Анализ цитотоксичности проводили согласно методике [23] с некоторыми изменениями. Суточный монослой клеток HeLa (cervical carcinoma cells, ATCC CCL-2™), выращенный в культуральной среде IMDM («БиолоТ») с 10% эмбриональной телячьей сыворотки («HyClone») без добавления антибиотиков, 1×10^5 клеток на лунку инфицировали бактериальной культурой при множественности заражения (MOI) 10 и 50. ФТ в концентрации 20 мкг/мл добавляли сразу после внесения бактериальной культуры и инкубировали при 37°C и 5% CO₂ в течение 20 ч. Планшеты центрифугировали в течение 20 мин при 1500 об/мин.

В супернатантах определяли активность высвобожденной лактатдегидрогеназы (ЛДГ) с помощью набора для анализа нерадиоактивной цитотоксичности «CytoTox 96» («Promega»). ЛДГ — цитозольный фермент, присутствующий в ядерных клетках, высвобождается во внеклеточную среду после разрушения клеточной мембраны. Процент высвобождения ЛДГ рассчитывали относительно неинфицированного контроля (0% высвобождения ЛДГ) и клеток HeLa, лизированных Triton X-100 (100% высвобождения ЛДГ). ЛДГ в бактериальных культурах в среде без монослоя клеток не выявлялась.

Плавательная подвижность

Для оценки плавательной подвижности бактерий культуры выращивали в течение 18 ч при 37°C с аэрацией на шейкере (240 об/мин), разводили в 100 раз LB-бульоном и культивировали в течение 3 ч при условиях, указанных выше. Инокулировали 2 мкл в толщу 0,25% агара, содержащего 1% триптона и 0,5% NaCl, в чашках Петри диаметром 90 мм. Наблюдали в течение 48 ч. Подвижность бактерий оценивали по диаметру зоны миграции бактерий от центра чашки. Эти значения служили положительными контролями при оценке подвижности бактерий.

Для оценки действия ФТ на подвижность клинических изолятов использовали раствор ФТ в ацетатном буфере в концентрации 100 мкг/мл. Для этого в приготовленный 0,25% агар, охлажденный до 45–50°C, вносили раствор ФТ, хорошо перемешивали и разливали по чашкам Петри. После застыва-

ния агара бактериальную культуру вносили в толщу агара в объеме 2 мкл. Образцы культивировали при 30°C во влажной камере в течение 48 ч. Действие ФТ оценивали по диаметру зоны движения бактерий. Изоляты с зоной подвижности менее 10 мм за 48 ч классифицировались как неподвижные, а с зоной более 10 мм — как подвижные. В контрольные чашки вносили ацетатный буфер без ФТ.

Биоплёнокообразование

Изучение способности изолятов к образованию биоплёнок проводили модифицированным методом G.A. O'Toole и соавт. [24]. Культивирование биоплёнки проводили в микротитрационных 96-луночных полистироловых планшетах с ТС-обработкой («Corning 3599»). Бактериальные культуры выращивали в LB-бульоне при 37°C в течение ночи на шейкере при 240 об/мин. Ночные культуры разводили до $\approx 10^7$ КОЕ/мл стерильным LB-бульоном с добавлением раствора ФТ в ацетатном буфере в конечной концентрации 100 мкг/мл, вносили в лунки планшета по 200 мкл. В лунки, выбранные в качестве положительного контроля, препарат не добавляли. В качестве отрицательного контроля в лунки вносили стерильный LB-бульон.

Планшеты стационарно инкубировали при 37°C в течение 48 ч. После инкубации содержимое лунок отбирали и трижды промывали 200 мкл стерильного фосфатно-солевого буфера, высушивали на воздухе и фиксировали 96% этанолом в течение 15 мин, затем удаляли этанол, лунки промывали и просушивали.

Окрашивание проводили двумя методами: в течение 15 мин 0,1% кристаллическим фиолетовым («Merck») или в течение 30 мин 0,1% Конго красным («Merck»). По истечении указанного времени краситель отбирали из лунок, промывали дистиллированной водой и высушивали на воздухе. Для количественного анализа связавшиеся с биоплёнкой красители экстрагировали 200 мкл 96% этанола, экстракт переносили в лунки чистого планшета.

Оптическую плотность измеряли с помощью спектрофотометра «Multiskan EX» («Thermo Scientific») при длине волны 540 нм для красителя кристаллический фиолетовый и 492 нм — для Конго красного. Для изучения структуры биоплёнки окрашивание проводили аналогично, лунки промывали и тщательно высушивали на воздухе, затем планшеты изучали под световым микроскопом («Nikon Eclipse 50i», «Nikon») при увеличении 200. Для каждого изолята были выполнены 3 параллельных эксперимента по 3 повторам.

Интернализация и выживаемость бактерий в клетках PC-3

В работе использовали клеточную линию PC-3 (клетки аденокарциномы простаты человека, ATCC

CRL-1435). Клетки инкубировали в клеточной среде RPMI-1640 («БиолоТ»), дополненной 10% эмбриональной телячьей сывороткой («HyClone») без добавления антибиотиков, при 37°C с 5% CO₂ в течение 24 ч. Количество клеток определяли с помощью счётчика клеток «Scepter 2.0» («Millipore»).

Клинические изоляты выращивали в течение 18 ч при 37°C в LB-бульоне с непрерывной аэрацией на шейкере (240 об/мин) до концентрации 10⁹ микробных клеток/мл.

Суточный монослой клеток РС-3, выращенный в 24-луночном культуральном планшете со стерильными круглыми стёклами диаметром 12 мм, инфицировали бактериальной культурой. Дозы заражения для внутриклеточной модели отбирали на основании полученных результатов по цитотоксичности клинических изолятов.

Для оценки инвазии клетки с бактериями инкубировали 1 ч, после чего клетки трижды промывали средой для удаления неприкрепившихся бактерий и инкубировали в течение 1 ч при 37°C и 0,5% CO₂ в среде, содержащей гентамицин («Gibco»), для уничтожения внеклеточных бактерий. Концентрация гентамицина была определена по минимальной подавляющей концентрации (МПК) для каждого изолята. Клетки трижды промывали для удаления гентамицина. Для определения количества бактерий клетки РС-3, заражённые бактериальными культурами, лизировали 0,25% Triton X-100 («Sigma») в течение 10 мин при комнатной температуре. В качестве отрицательного контроля использовали незаражённые клетки РС-3. Далее производили высевы лизатов на цетримидный или LB-агар (в зависимости от вида исследуемого изолята) методом серийных разведений. Количество внутриклеточных бактерий выражали в КОЕ/мл. Рассчитывали среднее значение из бактериальной популяции 2 лунок в 3 экспериментах.

Для оценки начала внутриклеточного размножения монослой клеток культивировали 4 ч и проводили все процедуры удаления внеклеточных бактерий и высева аналогично описанным выше.

Внутриклеточное выживание бактерий в клетках РС-3 оценивали через 24 ч после заражения бактериальной культурой. При этом через 4 ч после заражения клетки инкубировали с гентамицином 1 ч для уничтожения внеклеточных бактерий. Далее планшет трижды промывали для удаления гентамицина и вносили свежую питательную среду с поддерживающей концентрацией гентамицина. Все процедуры удаления внеклеточных бактерий и высева проводили аналогично описанным выше.

Для изучения действия ФТ раствор ФТ в диметилсульфоксиде вносили в культуральную среду в концентрации 20 мкг/мл на разных сроках эксперимента: за 1 ч до заражения, в момент заражения клеток, через 2 и 5 ч после заражения и отмывки

от гентамицина с дальнейшей инкубацией в присутствии ФТ в течение 24 ч от момента заражения.

Для проведения микроскопического анализа клетки фиксировали ацетоном и окрашивали мышинными поликлональными антителами (антитела были получены к каждому изоляту) в течение 30 мин при 37°C и 5% CO₂ и антимышиным конъюгатом IgG-FITC («Merck») в течение 30 мин при 37°C и 5% CO₂. Образцы анализировали с помощью флуоресцентного микроскопа «Nikon Eclipse 50i» («Nikon») при увеличении 1000.

Статистический анализ

Статистическую обработку результатов анализа и визуализации при исследовании бактерий *in vitro* выполняли с помощью «GraphPad Prism v. 8.4.3» («GraphPad Software»). Данные опытных и контрольных групп сравнивали с использованием t-критерия Стьюдента. Критерием статистической достоверности различия получаемых данных считали величину ошибки $p < 0,05$. Все эксперименты проводили в 3 повторах.

Результаты

Характеристика клинических изолятов

Анализ на чувствительность исследуемых клинических изолятов к антибиотикам выполнен в клинко-диагностической лаборатории НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина — филиала НМИЦ радиологии Минздрава России, результаты представлены в **таблице**.

ФТ не влияет на жизнеспособность клинических изолятов

Действие ФТ на жизнеспособность бактерий оценивали методом культивирования в питательном LB-бульоне в присутствии ФТ в концентрациях 60, 80 и 100 мкг/мл в течение 24 ч с непрерывной аэрацией на шейкере (240 об/мин) и определением КОЕ методом посева. В соответствии с механизмом действия и, как ранее было показано для бактерий разных видов, ФТ не влиял на жизнеспособность изучаемых клинических изолятов.

ФТ подавляет цитотоксичность клинических изолятов

Оба изолята *K. pneumoniae* характеризовались выраженной цитотоксичностью. Для изолята *K. pneumoniae* 5811 цитотоксичность при MOI 10 составила 65%, при MOI 50 — 78%. Для изолята *K. pneumoniae* 5672 цитотоксичность при MOI 10 была 70%, при MOI 50 — 76%.

Цитотоксичность изолятов *P. aeruginosa* 5595 и *E. coli* 5424/1 на клеточной линии Hela была менее выражена. При MOI 10 цитотоксичность изолята *P. aeruginosa* 5595 составила 50%, при MOI 50 —

Значения МПК АБП в отношении исследуемых клинических изолятов

Антибиотикограмма для выделенных микроорганизмов	<i>E. coli</i> 5424/1		<i>P. aeruginosa</i> 5595		<i>K. pneumoniae</i> 5811		<i>K. pneumoniae</i> 5672	
	качест- венный результат	МПК, мг/л	качест- венный результат	МПК, мг/л	качест- венный результат	МПК, мг/л	качест- венный результат	МПК, мг/л
Амикацин	S	≤ 8	S		S	≤ 8	S	≤ 8
Амоксициллин/клавулановая кислота	R		R		R			
Ампициллин	R	> 16	R		R	> 16	R	> 16
Ампициллин/сульбактам					R			
Гентамицин	R	128	R	16	R	512	S	≤ 2
Имипенем	S	≤ 0,25	S		R	> 8	S	≤ 0,5
Колистин					R			
Левифлоксацин			S		R	> 2	R	> 4
Меропенем	S	≤ 0,125	S		R	> 8	I	8
Нитрофурантоин			R					
Пиперацillin/тезобактам	S	≤ 4/4	S		R		S	≤ 4/4
Тигециклин	S	≤ 1	R					
Тобрамицин	S	≤ 2	S				S	≤ 2
Триметоприм/сульфаметоксазол	S	≤ 2/38			I		S	≤ 2/38
Фосфомицин с глюкозо-6-фосфатом	S	≤ 16					S	≤ 16
Цефазолин	R	> 32	R		R	> 32	R	> 32
Цефепим			S		R	> 8		
Цефтазидим			R		R	> 8	R	> 16
Цефтриаксон	S	≤ 1	R		R	> 4	R	> 4
Цефуроксим					R	> 16		
Ципрофлоксацин	S	≤ 0,25			R	> 1	R	> 1
Эртапенем	S	≤ 0,25	R		R	> 1	R	> 2

Примечание. S — чувствительный; R — резистентный, устойчивый; I — промежуточный.

61%. Для изолята *E. coli* 5424/1 — 38 и 60% при MOI 10 и MOI 50 соответственно.

В присутствии ФТ в концентрации 20 мкг/мл цитотоксичность через 20 ч культивирования достоверно снижалась при MOI 10 и MOI 50 для всех 4 клинических изолятов в 1,5–2,0 раза.

ФТ подавляет плавательную подвижность

В полужидкой среде бактериальные клетки способны к плавательной подвижности, перемещаясь за счёт жгутиков. *K. pneumoniae* относится к бактериям, которые не обладают плавательной подвижностью за счёт жгутиков. В связи с этим действие ФТ на плавательную активность оценивали для 2 уropатогенных изолятов: *P. aeruginosa* 5595 и *E. coli* 5424/1.

Установлено, что оба клинических изолята обладают плавательной подвижностью. В присутствии ФТ в концентрации 100 мкг/мл в среде культивирования наблюдалось выраженное подавление подвижности, связанной с активностью жгутика (рис. 1).

Диаметр зоны распространения бактерий в полужидком агаре для *P. aeruginosa* 5595 за 48 ч соста-

вил 65–67 мм, в присутствии ФТ — 25–27 мм. Для изолята *E. coli* 5424/1 диаметр зоны подвижности за 48 ч составил 35–37 мм, в присутствии ФТ зона уменьшилась до 12–14 мм. В контрольных чашках с ацетатным буфером без добавления ФТ подвижность не ингибировалась. Тем самым для ФТ было показано подавление подвижности, связанной с работой жгутика.

ФТ подавляет образование биоплёнок

Способность к формированию биоплёнок и влияние ФТ на этот процесс оценивали для 4 изолятов. Количественную оценку плотности биоплёнки проводили при окрашивании бактерий кристаллическим фиолетовым. Через 48 ч изолят *P. aeruginosa* 5595 формировал интенсивную многоуровневую зрелую биоплёнку, изоляты *K. pneumoniae* 5672 и *E. coli* 5424/1 формировали плотный монослой с участками многоуровневой структуры, изолят *K. pneumoniae* 5811 демонстрировал наименьшую скорость образования биоплёнки: к 48 ч наблюдали образование монослоя с формированием микроколоний.

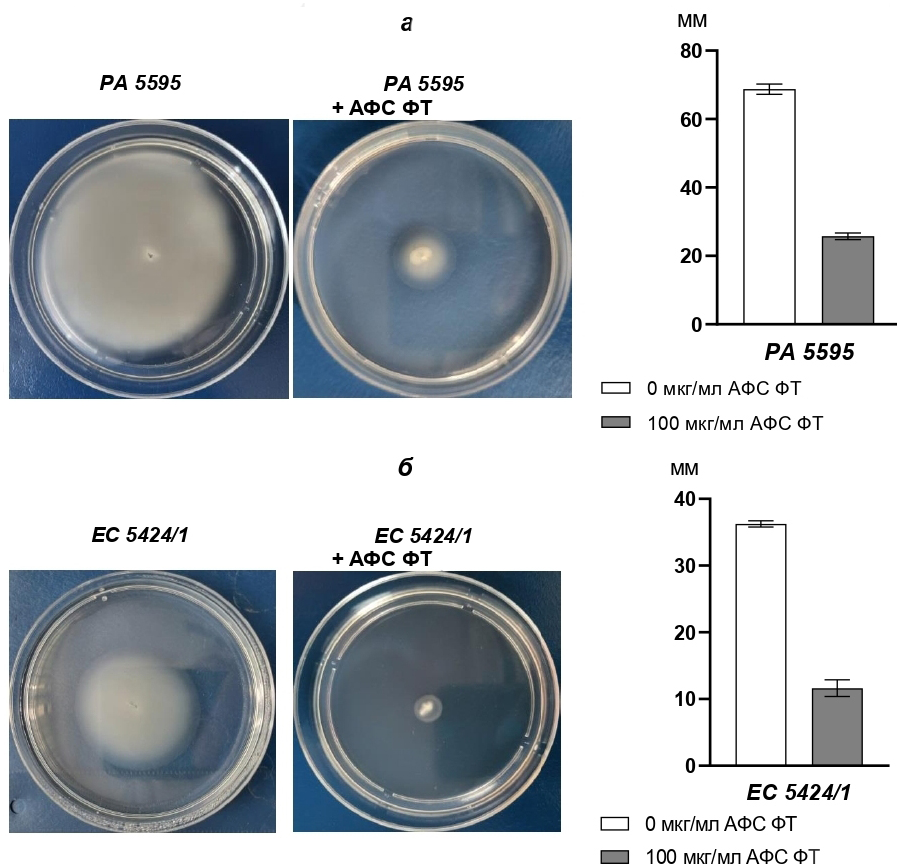


Рис. 1. Подавление плавательной подвижности изолятов через 48 ч инкубации в присутствии ФТ.

Репрезентативные изображения плавательной подвижности на чашках Петри и оценка изменения диаметра зоны подвижности *P. aeruginosa* 5595 (а) и *E. coli* 5424/1 (б) в присутствии ФТ в концентрации 100 мкг/мл. Планки погрешностей представляют собой SD 2 повторов.

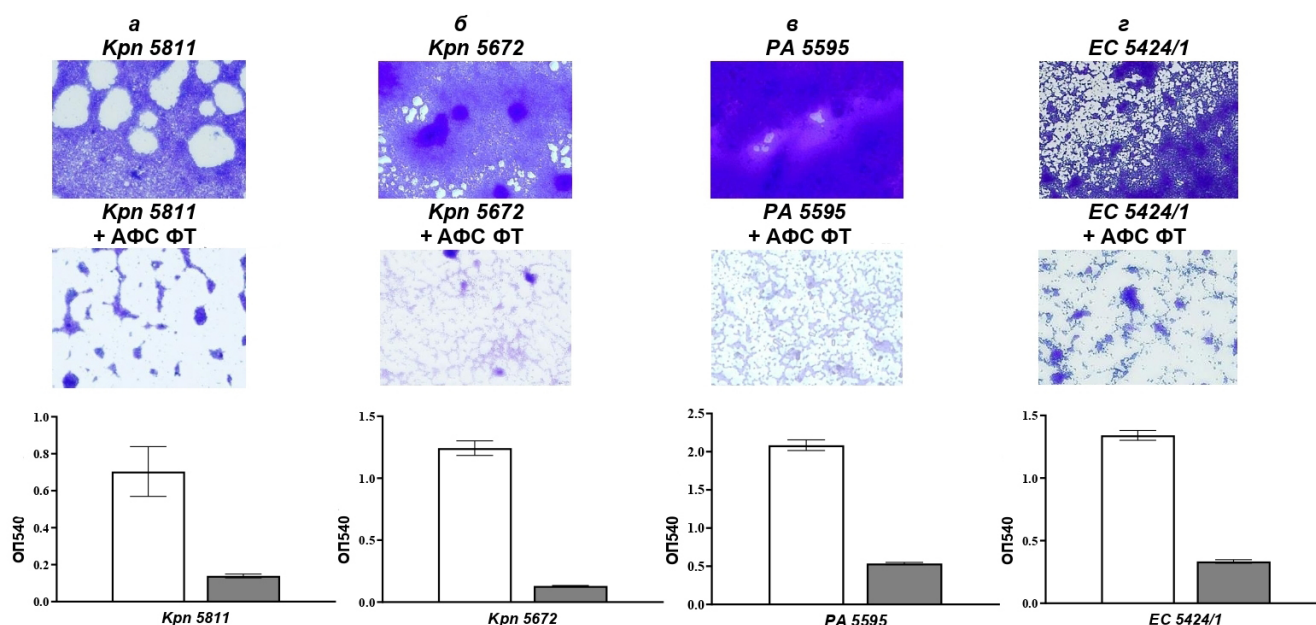


Рис. 2. ФТ изменяет структуру и биомассу биоплёнки изолятов *K. pneumoniae* 5811 (а), *K. pneumoniae* 5672 (б), *P. aeruginosa* 5595 (в) и *E. coli* 5424/1 (г).

Представлены микрофотографии фрагментов сформированной биоплёнки контрольных и опытных образцов с добавлением ФТ в концентрации 100 мкг/мл через 48 ч инкубации. Накопление биомассы биоплёнки оценивали по степени окрашивания кристаллическим фиолетовым при оптической плотности 540 нм.

Добавление ФТ одновременно с внесением бактериальной культуры приводило к достоверному снижению плотности биоплёнки и нарушению её структуры. Все изоляты под действием ФТ формировали на абиотической поверхности разреженный монослой с ячеистой структурой, однако не происходило формирования микроколоний и созревания биоплёнки (рис. 2).

При количественной оценке бактериальной плотности биоплёнки под действием ФТ установлено достоверное снижение количества бактерий в составе биоплёнки: максимальное подавление (на 85%) — для *K. pneumoniae* 5672, 79% — для *E. coli* 5424/1, 75% — для *P. aeruginosa* 5595, 71% — для *K. pneumoniae* 5811 (рис. 2).

Оценку формирования экзополисахаридного матрикса (ЭПМ) биоплёнки проводили при окрашивании Конго красным. Выявлено, что все изученные изоляты способны формировать ЭПМ, однако биоплёнка *K. pneumoniae* 5811 характеризовалась наименьшей интенсивностью ЭПМ. Под действием ФТ все изоляты утрачивали способность к биосинтезу ЭПМ (рис. 3).

При количественной оценке показано достоверное снижение формирования ЭПМ для всех изолятов: *K. pneumoniae* 5811 — на 76%, *K. pneumoniae* 5672 —

на 74%, *P. aeruginosa* 5595 — на 70%, *E. coli* 5424/1 — на 67% (рис. 3). Растворитель без содержания ФТ не оказывал влияния на формирование биоплёнки.

Таким образом, все исследованные изоляты способны формировать биоплёнку на абиотической поверхности, а ФТ подавлял формирование зрелой биоплёнки.

ФТ подавляет инвазию и внутриклеточное размножение уропатогенов

Возможность формирования ВБС изучаемыми уропатогенными изолятами оценивали на модели клеточной линии РС-3 (клетки аденокарциномы простаты человека) при заражении изолятами и наблюдении на этапе инвазии и внутриклеточного размножения через 4 и 24 ч. Для оценки действия ФТ на эти процессы препарат вносили за 1 ч до заражения, одновременно с заражением, а также после смены среды (через 2 и 5 ч).

Количество жизнеспособных внутриклеточных бактерий оценивали путём посева разведений лизата клеток после удаления внеклеточных бактерий обработкой гентамицином в течение 1 ч. Параллельно анализировали монослой клеток микроскопированием после окрашивания специфическими антибактериальными антителами.

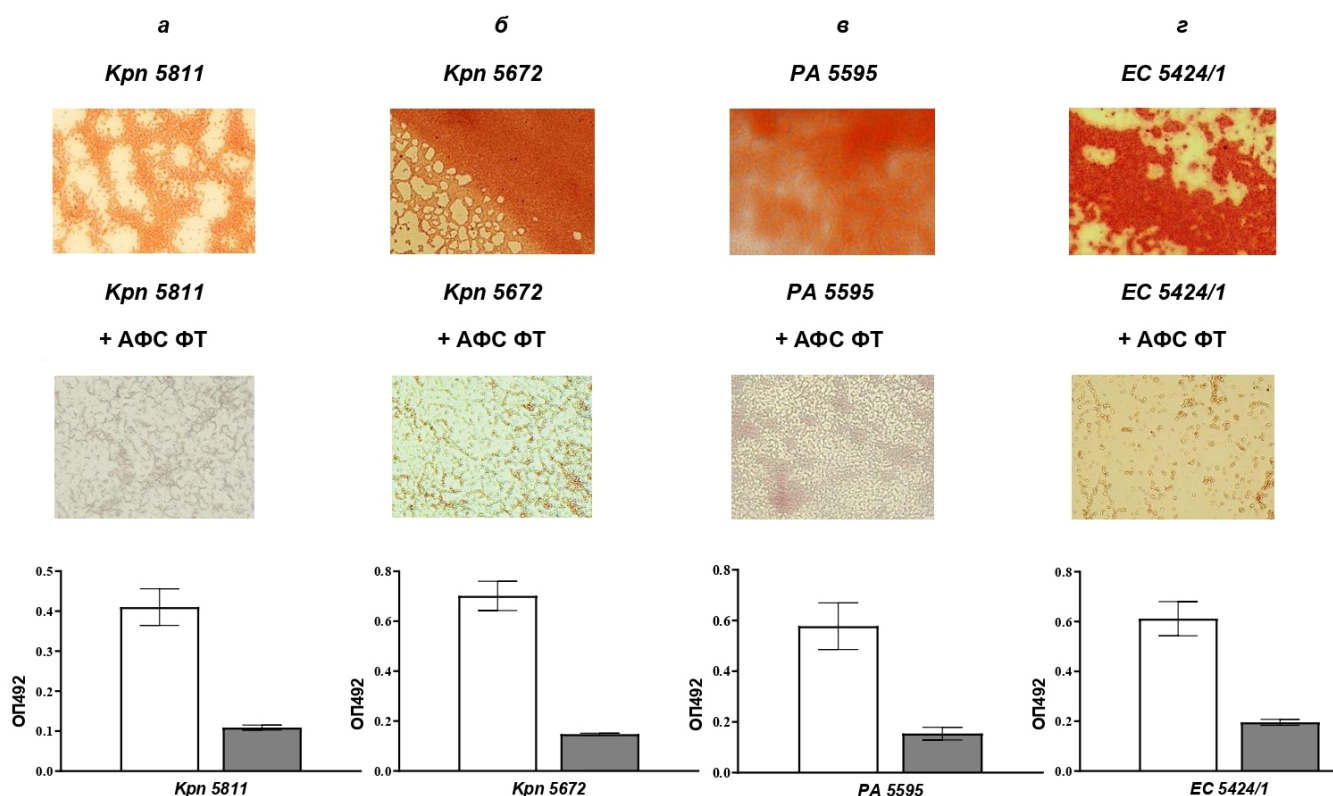


Рис. 3. ФТ ингибирует продукцию ЭПМ биоплёнки изолятов *K. pneumoniae* 5811 (а), *K. pneumoniae* 5672 (б), *P. aeruginosa* 5595 (в) и *E. coli* 5424/1 (г).

Представлены микрофотографии фрагментов ЭПМ биоплёнки контрольных и опытных образцов с добавлением ФТ в концентрации 100 мкг/мл через 48 ч инкубации. Продукцию ЭПМ биоплёнкой оценивали по степени окрашивания матрикса Конго красным при оптической плотности 492 нм.

Для изолята *E. coli* 5424/1 при заражении использовали дозу $1,5 \times 10^6$ КОЕ/мл, что составило МОИ 55. Через 1 ч инвазия составила 0,47%, а при действии ФТ — 0,053%. Через 4 ч количество внутриклеточных бактерий в контроле составило $2,1 \times 10^5$ КОЕ/мл, а в присутствии ФТ на порядок меньше — $1,1 \times 10^4$ КОЕ/мл. Через 24 ч наблюдали увеличение количества *E. coli* 5424/1 до $2,4 \times 10^6$ КОЕ/мл в контрольных образцах при значительном снижении размножения бактерий в присутствии ФТ до $7,5 \times 10^2$ КОЕ/мл.

На микрофотографиях монослоя заражённых клеток в контрольных образцах уже через 4 ч выявлялись внутриклеточные конгломераты клеток, которые к 24 ч формировали типичные ВБС. В присутствии ФТ ВБС практически не выявлялись (рис. 4).

Для изолята *K. pneumoniae* 5811 также наблюдали формирование ВБС и подавление их образования

в присутствии ФТ. Этот изолят показал более низкие значения инвазивности, которая составила для контроля 0,005%, при этом при действии ФТ наблюдали практически близкие показатели инвазивности. Для этого изолята установлено эффективное внутриклеточное размножение: через 4 ч количество внутриклеточных бактерий составило $5,0 \times 10^5$ КОЕ/мл, через 24 ч — $2,0 \times 10^6$ КОЕ/мл. При действии ФТ наблюдали подавление размножения бактерий — $5,9 \times 10^2$ КОЕ/мл через 24 ч. Ингибирование формирования ВБС в присутствии ФТ наглядно продемонстрировано на микрофотографиях (рис. 5).

Обсуждение

Установление диагноза ИМП, под которым могут маскироваться и инфекционно-воспалительные заболевания, и бессимптомная бактериурия, иногда трудно распознать, особенно при рецидивирующем течении, из-за сложного механизма

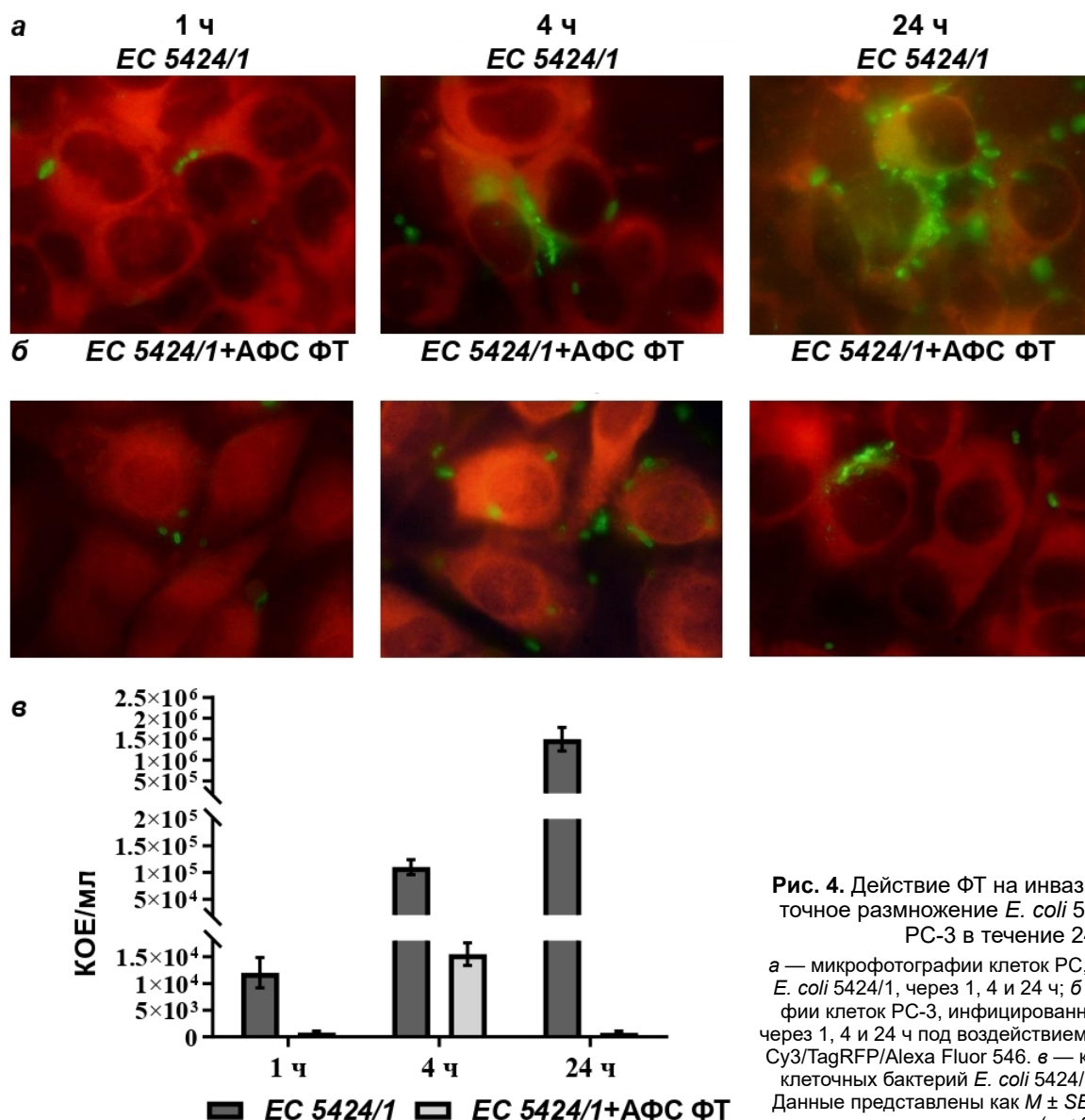


Рис. 4. Действие ФТ на инвазию и внутриклеточное размножение *E. coli* 5424/1 в клетках РС-3 в течение 24 ч.

а — микрофотографии клеток РС, инфицированных *E. coli* 5424/1, через 1, 4 и 24 ч; б — микрофотографии клеток РС-3, инфицированных *E. coli* 5424/1, через 1, 4 и 24 ч под воздействием ФТ. Фильтр TRITC/Sy3/TagRFP/Alexa Fluor 546. в — количество внутриклеточных бактерий *E. coli* 5424/1 в клетках РС-3. Данные представлены как $M \pm SEM$ 3 независимых экспериментов ($p < 0,05$).

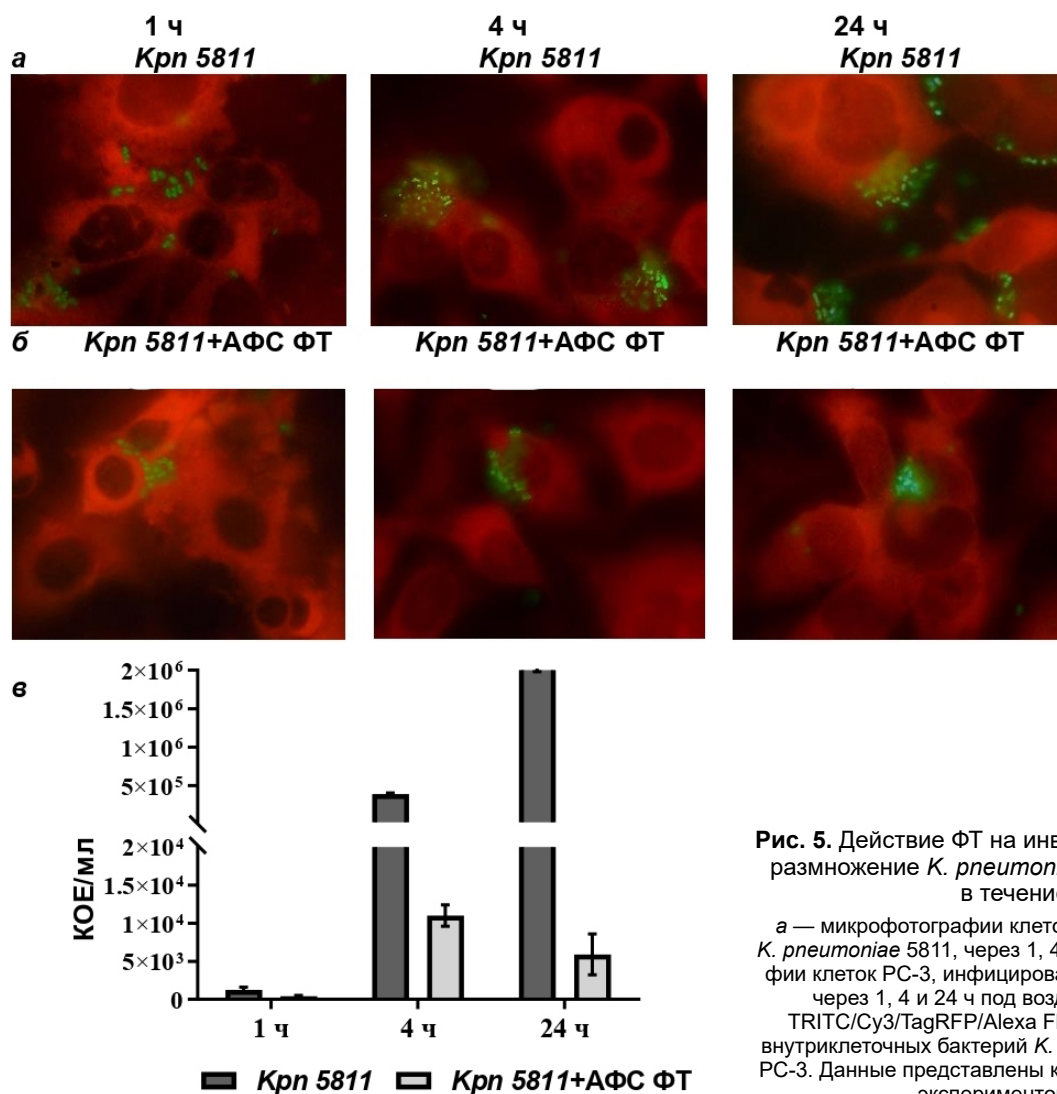


Рис. 5. Действие ФТ на инвазию и внутриклеточное размножение *K. pneumoniae* 5811 в клетках PC-3 в течение 24 ч.

а — микрофотографии клеток PC-3, инфицированных *K. pneumoniae* 5811, через 1, 4 и 24 ч; **б** — микрофотографии клеток PC-3, инфицированных *K. pneumoniae* 5811, через 1, 4 и 24 ч под воздействием ФТ. Фильтр TRITC/Cy3/TagRFP/Alexa Fluor 546. **в** — количество внутриклеточных бактерий *K. pneumoniae* 5811 в клетках PC-3. Данные представлены как $M \pm SEM$ 3 независимых экспериментов ($p < 0,05$).

взаимодействия уропатогенов с тканями мочевыводящих путей и иммунной системой организма. Международными руководствами рекомендовано ориентироваться только на клинические симптомы заболевания [1]. Несмотря на то что ИМП вызывают патогены различных таксономических групп, и в большей степени эти бактерии являются внеклеточными, тем не менее они используют общую стратегию развития инфекционного процесса: эффективную адгезию, инвазию в эпителиальные клетки и формирование резервуаров патогенов в виде ВБС, покоящихся внутриклеточных резервуаров или поверхностных (на катетерах, инородных телах) биоплёнок. Такая стратегия позволяет уходить от действия антибактериальных препаратов и факторов иммунитета хозяина, что и определяет клиническую и эпидемиологическую актуальность рецидивирующих ИМП.

Новые подходы к лечению таких хронических инфекций должны основываться на понимании механизмов патогенеза и специфическом блокировании звеньев этого механизма. В нашей работе

мы оценивали действие активной фармацевтической субстанции антибактериального препарата ФТ на проявление вирулентных свойств клинических изолятов 3 различных видов: *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *E. coli* в условиях *in vitro*.

ФТ — оригинальный отечественный антибактериальный препарат, отличающийся от антибиотиков по механизму действия, т. к. он не убивает бактерии, а подавляет их вирулентность. Для ФТ показано специфическое блокирование системы секреции III типа (ССТТ), которая ответственна за продукцию токсинов, разрушающих иммунные клетки и способствующих внутриклеточному выживанию бактерий. ФТ ингибирует также жгутиковую подвижность бактерий и образование биоплёнок. Подавление вирулентности приводило к блокированию инфекционного процесса в организме хозяина, что было показано в экспериментах на животных [25–27]. ФТ эффективен в отношении устойчивых к разным классам антибиотиков бактерий, т. к. мишень действия присутствует вне зависимости от наличия детерминант резистентности [28].

В клинических исследованиях на пациентах с острой ИМП установлено, что ФТ в 10 раз снижал развитие рецидивов через 2 и 3 мес после окончания терапии по сравнению с цефепимом, что можно объяснить эффективной эрадикацией уропатогенов в их резервуарах, в том числе внутриклеточных [29].

Известно, что *P. aeruginosa* и *E. coli* секретируют цитотоксины прямо в эукариотические клетки посредством ССТТ. В связи с этим мы оценивали действие ФТ на цитотоксичность этих изолятов. Для *K. pneumoniae* не показано наличие ССТТ, но описан цитотоксический эффект, связанный с наличием капсульного полисахарида [30].

Для всех проанализированных изолятов, которые характеризовались значительной токсичностью в отношении эпителиальных клеток, показано достоверное подавление гибели клеток в присутствии ФТ.

Наряду с ССТТ мишенью ФТ является жгутик, имеющий близкую структуру в базальной части органеллы. Для подвижных изолятов *P. aeruginosa* и *E. coli* наблюдали практически полное блокирование работы жгутика, которое выражалось в отсутствии зоны распространения в полужидком агаре. При этом нужно отметить, что рост бактерий в присутствии ФТ не подавлялся, что было показано в предварительных экспериментах.

Наличие у уропатогенов поверхностных структур, таких как пили, фимбрии и жгутики, способствует адгезии к рецепторам уротелия как первому этапу колонизации мочевого пузыря и, таким образом, являющихся важной мишенью для подавления развития инфекции. Одним из примеров подтверждения эффективности такого подхода, связанного с блокированием адгезии, является применение D-маннозы в клиническом исследовании, которое показало достоверное снижение вероятности развития рецидива при ИМП [31].

Таким образом, показанное при действии ФТ подавление подвижности бактерий, связанное с работой жгутиков, направлено на блокирование первого этапа развития инфекции — этапа колонизации уротелия.

Ключевым звеном развития хронического инфекционного процесса, имеющего рецидивирующее течение и обусловленного длительной персистенцией патогенов, является способность бактерий к активной инвазии в клетки уротелия и образованию внутриклеточных биоплёночных сообществ.

Мы оценивали действие ФТ на 24-часовой цикл развития изолятов *K. pneumoniae* и *E. coli* в клетках аденокарциномы простаты человека. Ранее установлено, что по своим фармакологическим свойствам ФТ имеет высокую тканевую доступность, проникает внутриклеточно и сохраняет активность в эукариотических клетках [32]. Внесение ФТ в среду культивирования достоверно снижало количество

бактерий, формирующих внутриклеточные бактериальные сообщества, что было показано при определении жизнеспособных микроорганизмов и выявлении внутриклеточных структур при микроскопировании через 24 ч контакта патогенов с клетками.

В настоящее время мы изучаем механизмы, благодаря которым ФТ подавляет внутриклеточную репликацию бактерий. С учётом того, что ФТ не оказывает прямого антибактериального действия, предполагаемый механизм заключается в блокировании тех факторов вирулентности бактерий, которые отвечают за взаимодействие с клеткой хозяина при сосуществовании и персистенции бактерий.

Возможность подавления биоплёнок ФТ была показана ранее для различных патогенов, в том числе карбапенемрезистентных возбудителей внутрибольничных инфекций. Изучение динамики формирования биоплёнок *in vitro* и влияния ФТ на этот процесс показало, что препарат блокирует биоплёнокообразование на этапе объединения микроколоний и образования многослойной структуры. Культивирование в присутствии ФТ оказывает ингибирующее действие на способность изолятов к формированию биоплёнки и, как следствие, снижение продукции экзополисахаридов [26, 27]. Полученные результаты имеют важное практическое значение, поскольку ЭПМ является ключевым фактором в устойчивости биоплёнки к антибактериальным препаратам и защите от иммунного ответа.

Заключение

В проведённых экспериментах по изучению влияния ингибитора ССТТ и жгутика — ФТ на вирулентные свойства клинических изолятов представителей трех видов уропатогенов в условиях *in vitro* было показано, что ФТ подавляет ключевые этапы установления персистенции бактерий при хронических инфекциях, такие как инвазию в эпителиальные клетки и формирование резервуаров патогенов в виде внутриклеточных бактериальных сообществ и поверхностных биоплёнок. Такие свойства ФТ, как подавление биоплёнок и ингибирование внутриклеточной репликации, являются значительным преимуществом разработанного оригинального отечественного препарата перед используемыми в настоящее время антибиотиками.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Bonkat G., Wagenlehner F., Kranz J. Keep it simple: a proposal for a new definition of uncomplicated and complicated urinary tract infections from the EAU urological infections guidelines panel. *Eur. Urol.* 2024;86(3):195–7.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2024.05.007>
2. Bell B.G., Schellevis F., Stobberingh E., et al. A systematic review and meta-analysis of the effects of antibiotic consumption on antibiotic resistance. *BMC Infect. Dis.* 2014;14:13.
DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-13>
3. Pigrau C., Escolà-Vergé L. Recurrent urinary tract infections: from pathogenesis to prevention. *Med. Clin. (Barc.)*

- 2020;155(4):171–7.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2020.04.026>
4. WHO. Antimicrobial resistance: global report on surveillance;2014. <https://who.int/publications/i/item/9789241564748>
 5. Flores-Mireles A.L., Walker J.N., Caparon M., Hultgren S.J. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat. Rev. Microbiol.* 2015;13(5):269–84. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrmicro3432>
 6. Sabih A., Leslie S.W. *Complicated Urinary Tract Infections*. Treasure Island;2025.
 7. Tandogdu Z., Wagenlehner F. Global epidemiology of urinary tract infections. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2016;29(1):73–9. DOI: <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000228>
 8. Klein R.D., Hultgren S.J. Urinary tract infections: microbial pathogenesis, host–pathogen interactions and new treatment strategies. *Nat. Rev. Microbiol.* 2020;18(4):211–26. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0324-0>
 9. Палагин И.С., Сухорукова М.В., Дехнич А.В. и др. Антибиотикорезистентность возбудителей внебольничных инфекций мочевых путей в России: результаты многоцентрового исследования «ДАРМИС-2018». *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2019;21(2):134–46. Palagin I.S., Sukhorukova M.V., Dekhnic A.V., et al. Antimicrobial resistance of pathogens causing community-acquired urinary tract infections in Russia: results of multicenter study «DARMIS-2018». *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2019;21(2):134–46. DOI: <https://doi.org/10.36488/cmhc.2019.2.134-146>
EDN: <https://elibrary.ru/vdyqtb>
 10. Mittal S., Sharma M., Chaudhary U. Biofilm and multidrug resistance in uropathogenic *Escherichia coli*. *Pathog. Glob. Health.* 2015;109(1):26–9. DOI: <https://doi.org/10.1179/2047773215Y.0000000001>
 11. Paczosa M.K., Mecsas J. *Klebsiella pneumoniae*: going on the offense with a strong defense. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2016;80(3):629–61. DOI: <https://doi.org/10.1128/MMBR.00078-15>
 12. Jalil M.B., Al Atbee M.Y.N. The prevalence of multiple drug resistance *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from patients with urinary tract infections. *J. Clin. Lab. Anal.* 2022;36(9):e24619. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcla.24619>
 13. Ashurst J.V., Dawson A. *Klebsiella Pneumonia*. Treasure Island;2023.
 14. Clegg S., Murphy C.N. Epidemiology and virulence of *Klebsiella pneumoniae*. *Microbiol. Spectr.* 2016;4(1). DOI: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.UTI-0005-2012>
 15. Filev R., Lyubomirova M., Bogov B., et al. Urinary tract infections caused by *Klebsiella pneumoniae* and prolonged treatment with trimethoprim/sulfamethoxazole. *Microorganisms*. 2025;13(2):422. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms13020422>
 16. Andersen T.E., Khandige S., Madelung M., et al. *Escherichia coli* uropathogenesis *in vitro*: invasion, cellular escape, and secondary infection analyzed in a human bladder cell infection model. *Infect. Immun.* 2012;80(5):1858–67. DOI: <https://doi.org/10.1128/iai.06075-11>
 17. Anderson G.G., Palermo J.J., Schilling J.D., et al. Intracellular bacterial biofilm-like pods in urinary tract infections. *Science*. 2003;301(5629):105–7. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1084550>
 18. Spaulding C.N., Hultgren S.J. Adhesive pili in UTI pathogenesis and drug development. *Pathogens*. 2016;5(1):30. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens5010030>
 19. Oh W.S., Hur J.A., Kim E.S., et al. Factors associated with specific uropathogens in catheter-associated urinary tract infection: developing a clinical prediction model. *J. Int. Med. Res.* 2014;42(6):1335–47. DOI: <https://doi.org/10.1177/0300060514543035>
 20. Jiménez-Alcaide E., Medina-Polo J., García-González L., et al. Healthcare-associated urinary tract infections in patients with a urinary catheter: Risk factors, microbiological characteristics and patterns of antibiotic resistance. *Arch. Esp. Urol.* 2015;68(6):541–50. (in Spanish)
 21. Akkerman A.E., Kuyvenhoven M.M., Verheij T.J.M., van Dijk L. Antibiotics in Dutch general practice: nationwide electronic GP database and national reimbursement rates. *Pharmacoepidemiol. Drug Saf.* 2008;17(4):378–83. DOI: <https://doi.org/10.1002/pds.1501>
 22. Maharjan G., Khadka P., Siddhi S.G., et al. Catheter-associated urinary tract infection and obstinate biofilm producers. *Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol.* 2018;2018:7624857. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/7624857>
 23. Specian A.F.L., Serpeloni J.M., Tuttis K. LDH, proliferation curves and cell cycle analysis are the most suitable assays to identify and characterize new phytotherapeutic compounds. *Cytotechnology*. 2016;68(6):2729–44. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10616-016-9998-6>
 24. O'Toole G., Kaplan H.B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Annu. Rev. Microbiol.* 2000;54:49–79. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.54.1.49>
 25. Zigangirova N.A., Nesterenko L.N., Sheremet A.B., et al. Fluorothiazinone, a small-molecular inhibitor of T3SS, suppresses salmonella oral infection in mice. *J. Antibiot.* 2021;74(4):244–54. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41429-020-00396-w>
 26. Koroleva E.A., Soloveva A.V., Morgunova E.Y., et al. Fluorothiazinone inhibits the virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* involved in the development of urinary tract infection. *J. Antibiot. (Tokyo)*. 2023;76(5):279–90. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41429-023-00602-5>
 27. Bondareva N.E., Soloveva A.V., Sheremet A.B., et al. Preventative treatment with Fluorothiazinone suppressed *Acinetobacter baumannii*-associated septicemia in mice. *J. Antibiot. (Tokyo)*. 2022;75(3):155–63. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41429-022-00504-y>
 28. Savitskii M.V., Moskaleva N.E., Brito A., et al. Pharmacokinetics, tissue distribution, bioavailability and excretion of the anti-virulence drug Fluorothiazinone in rats and rabbits. *J. Antibiot. (Tokyo)*. 2024;77(6):382–8. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41429-024-00719-1>
 29. Белобородов В.Б., Зигангирова Н.А., Лубенец Н.Л. и др. Влияние цефепима/фтортиазинона в сравнении с цефепимом/плацебо на клиническое излечение и микробиологическую эрадикацию у пациентов с осложнёнными инфекциями мочевыводящих путей: проспективное рандомизированное клиническое исследование. *Антибиотики и Химиотерапия*. 2024;(9-10):31–9. Beloborodov V.B., Zigangirova N.A., Lubenec N.L., et al. The effect of cefepime/fluorothiazinone compared with cefepime/placebo on clinical cure and microbiological eradication in patients with complicated urinary tract infections: a prospective randomized clinical trial. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2024;(9-10):31–9. DOI: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-31-39>
EDN: <https://elibrary.ru/AAHDQM>
 30. Cano V., Moranta D., Llobet-Brossa E., et al. *Klebsiella pneumoniae* triggers a cytotoxic effect on airway epithelial cells. *BMC Microbiol.* 2009;9:156. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-156>
 31. Parazzini F., Ricci E., Fedele F., et al. Systematic review of the effect of D-mannose with or without other drugs in the treatment of symptoms of urinary tract infections/cystitis (review). *Biomed. Rep.* 2022;17(2):69. DOI: <https://doi.org/10.3892/br.2022.1552>
 32. Zigangirova N.A., Lubenec N.L., Beloborodov V.B., et al. A new «non-traditional» antibacterial drug fluorothiazinone – clinical research in patients with complicated urinary tract infections. *Antibiotics (Basel)*. 2024;13(6):476. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics13060476>

Информация об авторах

Капотина Лидия Николаевна — канд. техн. наук, с. н. с. лаб. хламидиозов НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, lidiya.kapotina57@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0159-5053>

Моргунова Елена Юрьевна — н. с. лаб. хламидиозов НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, lena.morgunova.1968@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3142-0983>

Нелюбина Станислава Андреевна — м. н. с. лаб. хламидиозов НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, 19ctasy94@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5157-1415>

Федина Елена Дмитриевна — канд. мед. наук, с. н. с. лаб. хламидиозов НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, e.fedina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7205-4310>

Королёва Екатерина Андреевна — канд. биол. наук, с. н. с. лаб. хламидиозов НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, korolevakate@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9702-2940>

Бондарева Наталья Евгеньевна — канд. мед. наук, с. н. с. лаб. хламидиозов НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, natalia.d@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5244-2965>

Перепанова Тамара Сергеевна — д-р мед. наук, профессор, рук. группы инфекционно-воспалительных заболеваний и клинической фармакологии НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина — филиала НМИЦ радиологии, Москва, Россия, perepanova2003@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2877-0029>

Зигангирова Наиля Ахатовна — д-р биол. наук, профессор, член-корр. РАН, зав. отделом медицинской микробиологии НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, zigangirova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3188-1608>

Участие авторов: Капотина Л.Н. — анализ цитотоксичности, оценка плавательной подвижности, биоплёнкообразование, обработка результатов, написание текста; Моргунова Е.Ю. — изучение инвазии и внутриклеточного развития патогенов, обработка результатов; Нелюбина С.А. — культивирование изолятов, обработка результатов, редактирование статьи; Федина Е.Д., Королёва Е.А., Бондарева Н.Е. Перепанова Т.С. — редактирование статьи; Зигангирова Н.А. — концепция и дизайн исследования, написание текста. 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 05.08.2025;
принята к публикации 14.10.2025;
опубликована 31.10.2025

Information about the authors

Lydiya N. Kapotina — Cand. Sci. (Technics), senior researcher, Chlamydia department, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after N.F. Gamaleya, Moscow, Russia, lidiya.kapotina57@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0159-5053>

Elena Yu. Morgunova — researcher, Chlamydia department, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after N.F. Gamaleya, Moscow, Russia, lena.morgunova.1968@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3142-0983>

Stanislava A. Nelyubina — junior researcher, Chlamydia department, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after N.F. Gamaleya, Moscow, Russia, 19ctasy94@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5157-1415>

Elena D. Fedina — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Chlamydia department, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after N.F. Gamaleya, Moscow, Russia, e.fedina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7205-4310>

Ekaterina A. Koroleva — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Chlamydia department, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after N.F. Gamaleya, Moscow, Russia, korolevakate@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9702-2940>

Nataliya E. Bondareva — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Chlamydia department, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after N.F. Gamaleya, Moscow, Russia, natalia.d@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5244-2965>

Tamara S. Perepanova — Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Infectious and inflammatory diseases and clinical pharmacology group, N. Lopatkin Scientific Research Institute of Urology and Interventional Radiology — Branch of the National Medical Research Radiological Center, Moscow, Russia, perepanova2003@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2877-0029>

Naylia A. Zigangirova — Dr. Sci. (Biol.), Professor, RAS Corresponding member, Head, Department of medical microbiology, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after N.F. Gamaleya, Moscow, Russia, zigangirova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3188-1608>

Author contribution: Kapotina L.N. — cytotoxicity analysis, assessment of swimming motility, biofilm formation, processing of results, text writing; Morgunova E.Yu. — study of invasion and intracellular development of pathogens, processing of results; Nelyubina S.A. — cultivation of isolates, processing of results, editing of the article; Fedina E.D., Koroleva E.A., Bondareva N.I., Perepanova T.S. — editing the article; Zigangirova N.A. — concept and design of the study, text writing. 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 work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 05.08.2025;
accepted for publication 14.10.2025;
published 31.10.2025