

3  
НОМЕР

БОНЦ

ISSN 2304-9081

ЭЛЕКТРОННЫЙ ЖУРНАЛ  
On-line версия журнала на сайте  
<http://www.elmag.uran.ru>

# БЮЛЛЕТЕНЬ

ОРЕНБУРГСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА УРО РАН

*Lycaena thersamon* (Esper, 1784)  
Червонец блестящий  
Шовкун Д.Ф.



2019

УЧРЕДИТЕЛЬ  
ОРЕНБУРГСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР УРО РАН

© Коллектив авторов, 2019

УДК 579.61-579.25+57.083.1

*А.Д. Хабирова*<sup>1,3</sup>, *К.Ю. Швеиц*<sup>2,3</sup>, *Л.Р. Хакимова*<sup>2,3</sup>,  
*А.Х. Баймиев*<sup>1,2,3</sup>, *А.Р. Мавзютов*<sup>3</sup>

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПАНЕЛИ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫХ КАЛИБРАТОРОВ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА ПЛАТФОРМЕ ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ В ОТНОШЕНИИ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA***

<sup>1</sup> Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

<sup>2</sup> Уфимский федеральный исследовательский центр РАН, Уфа, Россия

<sup>3</sup> Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

*Цель исследования.* Апробация метода ускоренной молекулярно-генетической оценки противомикробной активности химических соединений на модели *Pseudomonas aeruginosa*.

*Материалы и методы.* Для проведения молекулярно-генетической оценки антимикробной активности в отношении грамотрицательной бактерии *P. aeruginosa* (штамм SS14 КС 866140) были выбраны следующие антибиотики: амикацин, гентамицин, пefлоксацин, ципрофлоксацин и цефтриаксон. Положительный контроль получали встраиванием участка генов 16S рРНК *Pseudomonas aeruginosa* в вектор рAL-ТА («Евроген», Россия) с последующей трансформацией и наработкой плазмиды в клетках *E. coli* XL1-Blue. Для получения данных о количестве ДНК *Pseudomonas aeruginosa* (ГЭ/образец) проводили ПЦР в режиме реального времени.

*Результаты.* Наиболее эффективным из 5 исследуемых антибактериальных препаратов оказался ципрофлоксацин. Полученные значения абсолютного количества ДНК *P. aeruginosa* в растворе антибиотика после непродолжительного культивирования оказались наименьшими по сравнению с амикацином, гентамицином, пefлоксацином и цефтриаксоном. Минимальная подавляющая концентрация для данного антибиотика составила 2 мкг/мл.

*Заключение.* Разработанная нами методика позволяет производить комплексную оценку противомикробной активности новых химических соединений с помощью метода ПЦР в режиме реального времени при этом ускоряя процесс лечения инфекционных заболеваний благодаря подбору наиболее эффективного препарата в короткие сроки.

*Ключевые слова:* бактериальная инфекция, антибиотики, чувствительность микроорганизмов, антибактериальная активность, молекулярно-генетические методы.

---

---

*A.D. Khabirova*<sup>1,3</sup>, *K.Yu. Shvets*<sup>2,3</sup>, *L.R. Khakimova*<sup>2,3</sup>,  
*A.Kh. Baymiyev*<sup>1,2,3</sup>, *A.R. Mavzyutov*<sup>3</sup>

**EXPERIMENTAL EVALUATION OF A PANEL OF GENETIC ENGINEERING CALIBRATORS FOR THE QUANTITATIVE ASSESSMENT OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF CHEMICAL COMPOUNDS ON A REAL-TIME PCR PLATFORM AGAINST *PSEUDOMONAS AERUGINOSA***

<sup>1</sup> Bashkir State University, Ufa, Russia

<sup>2</sup> Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia,

<sup>3</sup> Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

*Aim.* Approbation of the method of accelerated molecular genetic assessment of the antimicrobial activity of chemical compounds on the model of *Pseudomonas aeruginosa*.

*Materials and methods.* The following antibiotics were selected for the molecular genetic

assessment of the antimicrobial activity against the gram-negative bacterium *Pseudomonas aeruginosa* (strain SS14 KC 866140): amikacin, gentamicin, pefloxacin, ciprofloxacin and ceftriaxone. A positive control sample was obtained by embedding a 16S rRNA gene region of *Pseudomonas aeruginosa* into the pAL-TA vector (Eurogen, Russia), followed by transformation and plasmid production in *E. coli* XL1-Blue cells. To obtain data on the amount of *Pseudomonas aeruginosa* DNA (GE / sample), real-time PCR was performed.

*Results.* The most effective of the 5 studied antibacterial drugs was ciprofloxacin. The obtained values of the absolute amount of *Pseudomonas aeruginosa* DNA in the antibiotic solution after a short cultivation turned out to be the smallest in comparison with amikacin, gentamicin, pefloxacin and ceftriaxone. The minimum inhibitory concentration for this antibiotic was 2 µg / ml.

*Conclusion.* Thus, our methodology will allow for a comprehensive assessment of the antimicrobial activity of new chemical compounds using real-time PCR, while accelerating the treatment of infectious diseases due to the selection of the most effective drug in a short time.

*Key words:*. bacterial infection, antibiotics, sensitivity of microorganisms, antibacterial activity, molecular genetic methods.

## **Введение**

Инфекции и инфекционно-обусловленные патологические состояния остаются наиболее значимыми ввиду их социальной и эпидемической опасности. С каждым годом число больных, страдающих инфекционными заболеваниями, увеличивается и не имеет тенденции к снижению. В связи с этим встает вопрос о необходимости совершенствования методик быстрого выявления возбудителя и точного определения его чувствительности к лекарственным препаратам, что, в свою очередь, необходимо для выбора адекватной антибиотикотерапии.

В настоящее время для оценки чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам применяют фенотипические методы, которые предполагают оценку влияния веществ на жизнедеятельность микроорганизмов по таким параметрам, как скорость роста и биохимическая активность. Существенными недостатками данных методов является длительность и трудоемкость проводимых манипуляций, что способствует отдалению процесса подбора подходящей антибиотикотерапии и применения её на практике [6, 8]. Следовательно, вопрос быстрого определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам становится очень важным.

Современные молекулярно-генетические методы создают новые возможности в области диагностики онкологических заболеваний, пренатальной диагностики моногенных болезней, в судебной медицине для идентификации личности, а также для диагностики инфекционных заболеваний. [4, 7] Пред-

ставляется возможным использование данных методов для определения противомикробной активности новых химических соединений. В качестве такого метода можно рассматривать полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и её модификации. Метод ПЦР считается одним из наиболее быстрых и точных методов диагностики многих инфекционных заболеваний. Все более часто используется ПЦР с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени (РТ-ПЦР), которая позволяет проводить не только качественный анализ образца на предмет наличия или отсутствия генетической мишени, но и осуществлять количественную оценку содержания целевого маркера в пробе [5, 7].

В отличие от традиционных микробиологических методов, метод ПЦР может позволить проводить идентификацию генетических детерминант резистентности микроорганизмов, получать полную антибиотикограмму в короткие сроки, прогнозировать появление устойчивости к различным группам антимикробных препаратов, а также оценивать распространение резистентных штаммов на локальном и региональном уровнях [1-3]. Именно поэтому обнаружение антибиотикорезистентности методом ПЦР является существенным дополнением к традиционному микробиологическому тестированию [6, 7].

Цель настоящей работы – апробация метода ускоренной молекулярно-генетической оценки противомикробной активности химических соединений на модели *Pseudomonas aeruginosa*.

### **Материалы и методы**

Для проведения молекулярно-генетической оценки антимикробной активности в отношении грамотрицательной бактерии *P. aeruginosa* (штамм SS14 КС 866140) были выбраны следующие антибиотики: амикацин (конечная концентрация 50 мг/мл), гентамицин (конечная концентрация 40 мг/мл), пефлоксацин (конечная концентрация 80 мг/мл), ципрофлоксацин (конечная концентрация 2 мг/мл) и цефтриаксон (конечная концентрация 100 мг/мл). Положительный контрольный образец получали встраиванием участка генов 16S рРНК *P. aeruginosa* в вектор рAL-TA («Евроген», Россия) с последующей трансформацией и наработкой плазмиды в клетках *E. coli* XL1-Blue. Для выделения тотальной ДНК микроорганизмов использовали ионообменную смолу Chelex100.

Для получения данных о количестве ДНК *P. aeruginosa* (ГЭ/образец) проводили ПЦР в режиме реального времени использовали пары видоспеци-

фичных праймеров к фрагментам ДНК исследуемых микроорганизмов Ps.aer F\_Pr1 (agaaagtgggggatcttcggacctca), Ps.aer R\_Pr2 (tgttggaacgtcaaaacagcaaggat taactt) и 2,5-ную реакцию смесь в присутствии SYBR Green I (ООО «СИНТОЛ»), согласно инструкции производителя.

### Результаты и обсуждения

Проведение количественной ПЦР в режиме реального времени позволило рассчитать средние значения концентраций ДНК *P. aeruginosa* после культивирования в питательной среде в присутствии антибиотика, что дало возможность оценить антимикробную активности исследуемых препаратов.

Расчет производили по формуле:

$$X_o = X_{or} \times (1+E)^{Ct_{or} - Ct_o},$$

где:

$X_o$  – концентрация матриц исследуемого образца (ГЭ/образец);

$X_{or}$  – стандартная начальная концентрация (копий ДНК/мл);

$E$  – эффективность РТ-ПЦР;

$Ct_{or}$  – пороговый цикл для стандартного образца;

$Ct_o$  – пороговый цикл для исследуемого образца.

Результаты расчетов для каждого антибиотика приведены в таблице 1.

*Таблица 1.* Абсолютное количество ДНК *P. aeruginosa* в растворе антибиотика после непродолжительного культивирования (ГЭ/образец)

Градиент концентраций (мкг/мл)					
	Амикацин	Гентамицин	Пефлоксацин	Цефтриаксон	Ципрофлоксацин
256,0	$1,3 \times 10^7$	$8,9 \times 10^6$	$8,53 \times 10^6$	$2,93 \times 10^7$	$4,2 \times 10^6$
128,0	$7,75 \times 10^6$	$16,5 \times 10^6$	$9,33 \times 10^6$	$4,58 \times 10^6$	$7,35 \times 10^6$
64,0	$9,38 \times 10^6$	$14,3 \times 10^6$	$1,38 \times 10^7$	$2,27 \times 10^7$	$7,6 \times 10^6$
32,0	$1,28 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$	$1,70 \times 10^7$	$1,9 \times 10^7$	$7,98 \times 10^6$
16,0	$1,01 \times 10^7$	$1,35 \times 10^7$	$2,30 \times 10^7$	$2,09 \times 10^7$	$9,25 \times 10^6$
8,0	$1,57 \times 10^7$	$1,86 \times 10^7$	$3,03 \times 10^7$	$2,89 \times 10^7$	$9,38 \times 10^6$
4,0	$1,17 \times 10^7$	$1,67 \times 10^7$	$1,79 \times 10^7$	$1,91 \times 10^7$	$1,72 \times 10^7$
2,0	$2,24 \times 10^7$	$4,71 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	$4,05 \times 10^7$	$1,34 \times 10^7$
1,0	$2,31 \times 10^7$	$3,09 \times 10^7$	$3,43 \times 10^7$	$3,22 \times 10^7$	$2,72 \times 10^7$

Молекулярно-генетические исследования антимикробной активности рабочих растворов амикацина, гентамицина, пефлоксацина, цефтриаксона, ципрофлоксацина с различными концентрациями (в градиенте от 256,0 до 1,0

мкг/мл) показали, что антибиотики действительно являются эффективными в отношении аэробных неферментирующих грамотрицательных бактерий *P. aeruginosa*, в том числе в отношении выбранного для экспериментов штамма SS14 KC 866140.

Результаты количественной оценки антимикробной активности амикацина позволили сделать вывод о том, что рост бактерий наиболее сильно подавляли следующие концентрации амикацина: 256 мкг/мл, 128 мкг/мл, 64 мкг/мл, 32 мкг/мл, 16 мкг/мл, 8 мкг/мл, 4 мкг/мл и 2 мкг/мл. При этом абсолютное количество ДНК *P. aeruginosa* в растворе антибиотика после непродолжительного культивирования для рабочих растворов антибиотика с данными концентрациями соответственно составило  $1,3 \times 10^7$ ,  $7,75 \times 10^6$ ,  $9,38 \times 10^6$ ,  $1,28 \times 10^7$ ,  $1,01 \times 10^7$ ,  $1,57 \times 10^7$ ,  $1,17 \times 10^7$ ,  $2,24 \times 10^7$  и  $2,31 \times 10^7$  ГЭ/образец.

На рисунке 1 представлены графики амплификации, описывающие данные результаты.

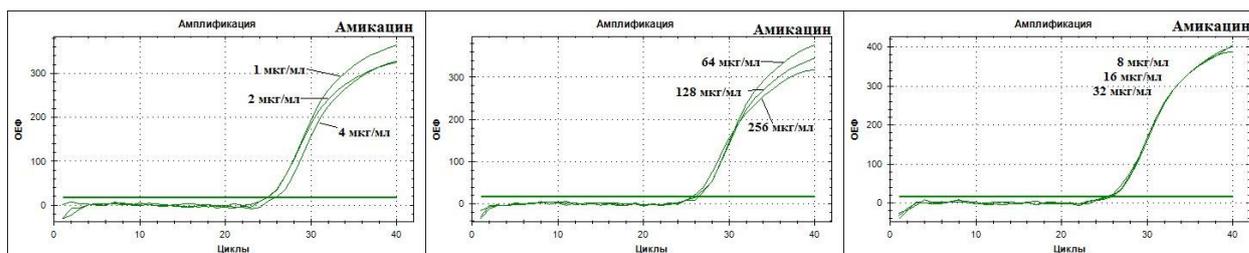


Рис. 1. Графики амплификации участков генов 16S рНК *P. aeruginosa* после непродолжительного культивирования микроорганизма в рабочих растворах амикацина.

Минимальная подавляющая концентрация для гентамицина составила 2 мкг/мл, что совпадает с результатами, полученными при оценке антимикробной активности амикацина (рис. 2).

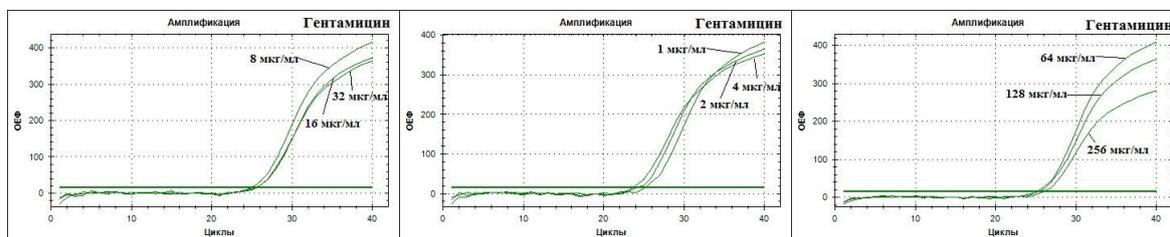


Рис. 2. Графики амплификации участков генов 16S рНК *P. aeruginosa* после непродолжительного культивирования микроорганизма в рабочих растворах гентамицина

Однако стоит отметить, что абсолютное количество ДНК *P. aeruginosa* в растворе гентамицина после непродолжительного культивирования оказа-

лось больше в сравнении с амикацином и составило  $8,9 \times 10^6$  ГЭ/образец,  $16,5 \times 10^6$  ГЭ/образец,  $14,3 \times 10^6$  ГЭ/образец,  $1,3 \times 10^7$  ГЭ/образец,  $1,35 \times 10^7$  ГЭ/образец,  $1,86 \times 10^7$  ГЭ/образец,  $1,67 \times 10^7$  ГЭ/образец,  $4,71 \times 10^7$  ГЭ/образец,  $3,09 \times 10^7$  ГЭ/образец для рабочих растворов гентамицина с концентрацией 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2 и 1 мкг/мл соответственно.

Пефлоксацин в равной степени проявлял высокую активность в отношении *P. aeruginosa*, как и указанные раньше антибактериальные препараты. Минимальная подавляющая концентрация составила 2 мкг/мл. При этом абсолютное количество ДНК *Pseudomonas aeruginosa* в растворе антибиотика после непродолжительного культивирования оказалось в разы больше, чем после амикацина и гентамицина и составило  $8,53 \times 10^6$  ГЭ/образец,  $9,33 \times 10^6$  ГЭ/образец,  $1,38 \times 10^7$  ГЭ/образец,  $1,70 \times 10^7$  ГЭ/образец,  $2,30 \times 10^7$  ГЭ/образец,  $3,03 \times 10^7$  ГЭ/образец,  $1,79 \times 10^7$  ГЭ/образец,  $1,0 \times 10^7$  ГЭ/образец,  $3,43 \times 10^7$  ГЭ/образец для рабочих растворов антибиотика с концентрацией 256 мкг/мл, 128 мкг/мл, 64 мкг/мл, 32 мкг/мл, 16 мкг/мл, 8 мкг/мл, 4 мкг/мл, 2 мкг/мл, 1 мкг/мл соответственно. Ниже представлены графики амплификации участков генов 16S рРНК *Pseudomonas aeruginosa* (рис. 3).

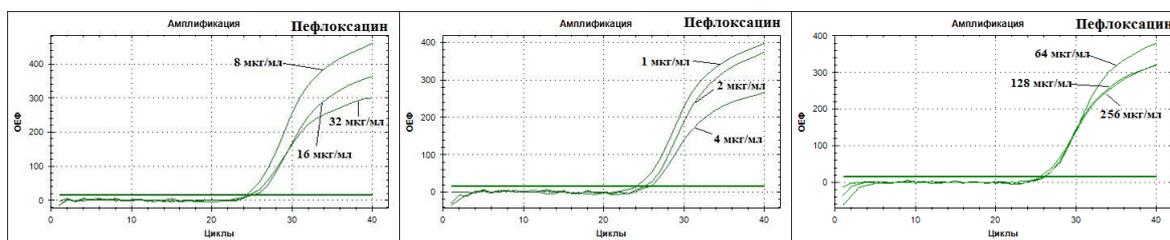


Рис. 3. Графики амплификации участков генов 16S рРНК *P. aeruginosa* после непродолжительного культивирования микроорганизма в рабочих растворах пефлоксацина.

Цефтриаксон оказался наименее эффективен в отношении *Pseudomonas aeruginosa*. Минимальная подавляющая концентрация для данного антибиотика составила 4 мкг/мл, что в разы превышает значения всех исследуемых препаратов. Однако абсолютное количество ДНК *P. aeruginosa* в растворе антибиотика после непродолжительного культивирования для рабочих растворов антибиотика с концентрацией от 256 мкг/мл до 4 мкг/мл в среднем оставалось на одном и том же уровне, что и для амикацина, гентамицина и пефлоксацина. Числовые показатели концентраций для рабочих растворов антибиотика с концентрациями 256 мкг/мл, 128 мкг/мл, 64 мкг/мл, 32 мкг/мл, 16 мкг/мл, 8 мкг/мл, 4 мкг/мл, 2 мкг/мл, 1 мкг/мл составили  $2,93 \times 10^7$  ГЭ/образец,

4,58×10<sup>6</sup> ГЭ/образец, 2,27×10<sup>7</sup> ГЭ/образец, 1,9×10<sup>7</sup> ГЭ/образец, 2,09×10<sup>7</sup> ГЭ/образец, 2,89×10<sup>7</sup> ГЭ/образец, 1,91×10<sup>7</sup> ГЭ/образец, 4,05×10<sup>7</sup> ГЭ/образец, 3,22×10<sup>7</sup> ГЭ/образец соответственно. Ниже представлены графики амплификации участков генов 16S рРНК *Pseudomonas aeruginosa* (рис. 4).

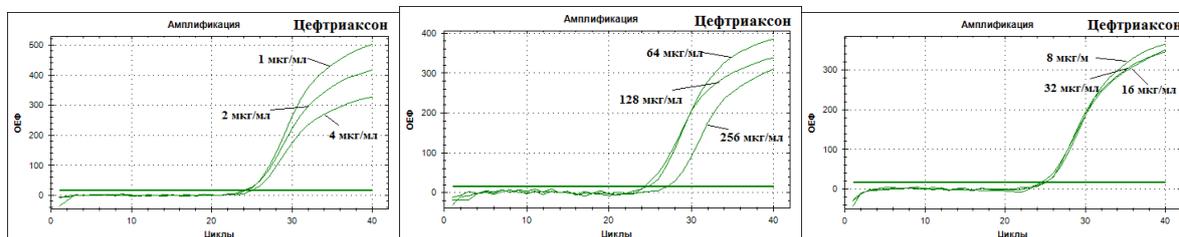


Рис. 4. Графики амплификации участков генов 16S рРНК *P. aeruginosa* после непродолжительного культивирования микроорганизма в рабочих растворах цефтриаксона.

Наиболее эффективным из 5 исследуемых антибактериальных препаратов оказался ципрофлоксацин (рис. 5).

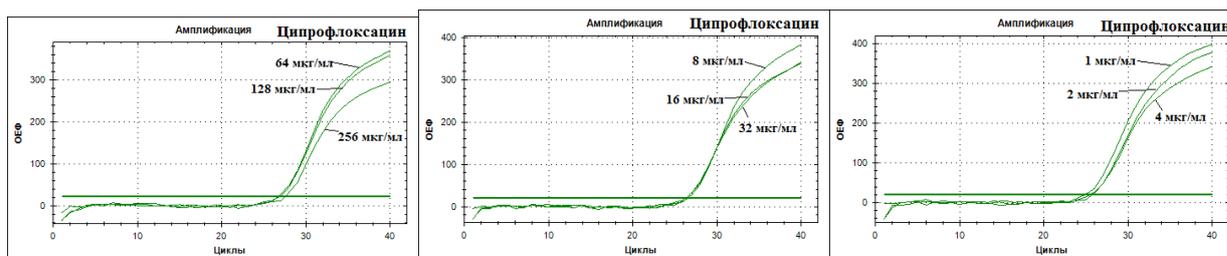


Рис. 5. Графики амплификации участков генов 16S рРНК *P. aeruginosa* после непродолжительного культивирования микроорганизма в рабочих растворах ципрофлоксацина.

Значения абсолютного количества ДНК *P. aeruginosa* в растворе антибиотика после непродолжительного культивирования для рабочих растворов антибиотика с концентрациями 256 мкг/мл, 128 мкг/мл, 64 мкг/мл, 32 мкг/мл, 16 мкг/мл, 8 мкг/мл, 4 мкг/мл, 2 мкг/мл, 1 мкг/мл составили 4,2×10<sup>6</sup> ГЭ/образец, 7,35×10<sup>6</sup> ГЭ/образец, 7,6×10<sup>6</sup> ГЭ/образец, 7,98×10<sup>6</sup> ГЭ/образец, 9,25×10<sup>6</sup> ГЭ/образец, 9,38×10<sup>6</sup> ГЭ/образец, 1,72×10<sup>7</sup> ГЭ/образец, 1,34×10<sup>7</sup> ГЭ/образец, 2,72×10<sup>7</sup> ГЭ/образец соответственно. Полученные значения оказались наименьшими по сравнению с амикацином, гентамицином, пefлоксацином и цефтриаксоном. Минимальная подавляющая концентрация для данного антибиотика составила 2 мкг/мл.

### **Заключение**

Таким образом, в ходе данного исследования установлено, что в отличие от традиционных микробиологических методов метод ПЦР позволяет

проводить идентификацию генетических детерминант антибиотикорезистентности микроорганизмов, в том числе сложно культивируемых бактерий, в сравнительно короткие сроки. Он отличается высокой точностью и меньшими требованиями к забору материала, не требует наличия питательных сред, дисков с антибиотиками и дополнительных реактивов.

Определение антибиотикорезистентности с помощью ПЦР позволяет прогнозировать появление устойчивости к различным группам антимикробных препаратов, а также оценить распространение резистентных штаммов на локальном и региональном уровнях. Поэтому обнаружение антибиотикорезистентности методом ПЦР является существенным дополнением к традиционному микробиологическому тестированию.

*(Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере по программе «УМНИК ХЕЛСНЕТ НТИ»-2017, Москва)*

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Жданова О.С., Красноженов Е.П., Соснин Э.А., Гудкова Л.В., Грицута А.В., Протас И.М., Ефиц А.В. Антибиотикорезистентность штаммов *Pseudomonas aeruginosa* с разной способностью к синтезу пиоцианина. Альманах клинической медицины. 2013. 1(28):13-17.
2. Кузнецова М.В., Павлова Ю.А., Карпунина Т.И., Демаков В.А. Опыт использования методов молекулярной генетики при идентификации клинических штаммов *Pseudomonas aeruginosa*. Клиническая лабораторная диагностика. 2013. 3(1): 34-37.
3. Кулуев Б.Р., Дубровская Д.Н., Хайдарова Д.Я., Шакирова И.А., Мавзютов А.Р. Перспективы определения антибиотикоустойчивости условно-патогенных представителей Enterobacteriaceae молекулярно-генетическими методами. Клиническая лабораторная диагностика. 2011. 9: 43а.
4. Мавзютов А.Р., Мирсаяпова И.А., Баймиев А.Х., Хасанова Г.Ф., Мавзютова Г.А., Очилова Р.А. Разработка и использование тестсистем для молекулярно-генетической детекции возбудителей внебольничной пневмонии. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2011. 6: 69-72
5. Мальцева Н. В., Воробьева О. Н., Тараско А. Д., Пирогов Е. А. ДНК-диагностика синегнойной инфекции. Клиническая лабораторная диагностика. 2015. 12(60): 35-38.
6. Меньшиков В.В. Методики клинических лабораторных исследований. Справочное пособие. Том 3. Клиническая микробиология. М.: Лабора, 2009.
7. Ребриков Д.В., Саматов Г.А., Трофимов Д.Ю. ПЦР в реальном времени, 2-е изд., испр. и доп. М: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009.
8. Ekadashi R Sabharwal. Antibiotic Susceptibility Patterns of Uropathogens in Obstetric Patients. North American Journal of Medical Sciences. 2012. 4(7): 316-320.

*Поступила 26 августа 2019 г.*

*(Контактная информация: Мавзютов Айрат Радикович - д.м.н., профессор, зав. кафедрой фундаментальной и прикладной микробиологии Башкирского государственного медицинского университета; адрес: 450008, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3; тел: 8 (347) 276-19-60;; e-mail: [ufalab@mail.ru](mailto:ufalab@mail.ru)).*

## **LITERATURA**

1. Zhdanova O.S., Krasnozhenov E.P., Sosnin E.A., Gudkova L.V., Gritsuta A.V., Protas I.M., Efits A.V. Antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* strains with different ability to synthesize pyocyanin. Almanac of clinical medicine. 2013. 1(28): 13-17.
2. Kuznetsova M.V., Pavlova Yu.A., Karpunina T.I., Demakov V.A. Experience in using molecular genetics methods to identify clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. Clinical laboratory diagnostics. 2013. 3(1): 34-37.
3. Kuluyev B.R., Dubrovskaya D.N., Khaidarova D.Ya., Shakirova I.A., Mavzyutov A.R. Prospects for determining the antibiotic resistance of opportunistic representatives of Enterobacteriaceae by molecular genetic methods. Clinical laboratory diagnostics. 2011. 9: 43a.
4. Mavzyutov A.R., Mirsayapova I.A., Baimiev A.Kh., Khasanova G.F., Mavzyutova G.A., Ochilova R.A. Development and use of test systems for molecular genetic detection of community-acquired pneumonia pathogens. Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2011. 6: 69-72
5. Maltseva N. V., Vorobeva O. N., Tarasco A. D., Pirogov E. A. DNA diagnosis of *Pseudomonas aeruginosa*. Clinical laboratory diagnostics. 2015. 12(60): 35-38.
6. Menshikov V.V. Methods of clinical laboratory research. Reference manual. Volume 3. Clinical Microbiology. М.: Lab, 2009.
7. Rebrikov D.V., Samatov G.A., Trofimov D.Yu. Real-time PCR, 2nd ed., Rev. and add. М: BINOM. Knowledge Laboratory, 2009.
8. Ekdashi R Sabharwal. Antibiotic Susceptibility Patterns of Uropathogens in Obstetric Patients. North American Journal of Medical Sciences. 2012. 4(7): 316-320.

### **Образец ссылки на статью:**

Хабирова А.Д., Швец К.Ю., Хакимова Л.Р., Баймиев А.Х., Мавзютов А.Р. Экспериментальная оценка панели генно-инженерных калибраторов для количественной оценки антимикробной активности химических соединений на платформе ПЦР в режиме реального времени в отношении *Pseudomonas aeruginosa*. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2019. №3. 8с. [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2019-3/Articles/KhAD-2019-3.pdf>). DOI: 10.24411/2304-9081-2019-13015