

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА В ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТУБЕРКУЛЕЗА ПО БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИМ КРИТЕРИЯМ

А.В. Захаров¹, А.Э. Эргешов², А.Л. Хохлов³, Б.С. Кибрик³, О.Ю. Соснина¹

THE EFFICACY OF SILVER NANOPARTICLES IN THE TREATMENT OF EXPERIMENTAL TUBERCULOSIS ACCORDING TO BACTERIOLOGICAL CRITERIA

A.V. Zakharov, A.E. Ergeshov, A.L. Khokhlov, B.S. Kibrik, O.Yu. Sosnina

В исследовании дана оценка наночастиц серебра как адъюванта химиотерапии экспериментального туберкулеза с лекарственной устойчивостью возбудителя. Модель туберкулеза создавали у белых мышей-самцов имбредной линии BALB/c. Эффективность лечения оценивали по индексам поражения, бактериоскопии и высеваемости возбудителя из органов-мишеней. В лечении использовали наночастицы серебра со средним размером 3–60 нм.

Полученные результаты индекса поражения свидетельствуют о более высокой эффективности применения нанокompозита, состоящего из наночастиц серебра и изониазида. Бактериоскопический индекс и показатели высеваемости из легочной ткани и экстраторакальных органов также имели более приоритетные статистически достоверные значения при использовании в лечении нанокompозита. При этом была установлена оптимальная доза наночастиц в составе композита, которая обеспечивала наиболее высокие показатели результативности лечения. Проведенные исследования показали, что наночастицы серебра способны потенцировать изониазид по преодолению устойчивости возбудителя.

Ключевые слова: наночастицы серебра, лекарственная устойчивость МБТ, изониазид, экспериментальный туберкулез

In the study, an assessment of the silver nanoparticles as adjuvant chemotherapy of experimental drug-resistant tuberculosis. A model of tuberculosis was created in white mice-males imbrogno line BALB/c. The effectiveness of treatment was assessed according to the index lesion, examination and visivamente of the pathogen from the target organs. In the treatment silver nanoparticles with an average size up 3 to 60 nm were used.

The obtained results of the index lesion indicate a higher efficacy of the nanocomposite consisting of silver nanoparticles and isoniazid. Direct microscopic index and indicators of visivamente of lung tissue and extraorally bodies also had a higher priority statistically significant value when used in the treatment of nanocomposite. Thus were established the optimal dose of the nanoparticles in the composition that provided the highest efficiency of treatment. Studies have shown that silver nanoparticles are able to potentiate isoniazid to overcome the resistance of the pathogen.

Keywords: silver nanoparticles, drug resistance of MBT, isoniazid, experimental tuberculosis

Введение

По данным статистических исследований [8], в России отмечается отчетливый рост числа бактериовыделителей с первичной множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) возбудителя туберкулеза. В 2015 г. этот показатель в гражданском секторе здравоохранения составил 26,8% случаев туберкулеза легких. Ежегодный прирост первичной МЛУ микобактерий туберкулеза (МБТ) находится на уровне 3%. По материалам этого же источника, отмечается рост частоты МЛУ МБТ среди пациентов с рецидивами туберкулеза легких

в гражданском секторе здравоохранения с 38,7% в 2013 г. до 45,9% в 2015 г. На фоне роста туберкулеза с лекарственной устойчивостью МБТ остаются низкими показатели результативности его лечения. За последние годы излечение больных с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ) возбудителя в России составляет не более 25%. На фоне внедрения в клиническую практику новых противотуберкулезных препаратов отмечено некоторое повышение эффективности лечения [1, 2], однако этот успех, как показывает история химиотерапии, имеет временный характер. В условиях недостаточной

¹ ГБУЗ Ярославской области «Областная клиническая туберкулезная больница», г. Ярославль.

² ФГБНУ «Центральный НИИ туберкулеза», г. Москва.

³ ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России.

эффективности лечения туберкулеза и нарастающей лекарственной устойчивости возбудителя представляет большой научный и клинический интерес поиск средств, потенцирующих действие противотуберкулезных препаратов (адьювантов химиотерапии) [10].

В качестве адьюванта химиотерапии туберкулеза нами предложены наночастицы серебра. Экспериментальными и клиническими исследованиями доказано выраженное антибактериальное и потенцирующее действие наночастиц серебра на широкий круг возбудителей [7, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18]. Имеются отдельные работы и по антимикобактериальному действию наночастиц серебра [12]. Результаты проведенных нами исследований продемонстрировали высокую подавляющую активность наночастиц в сочетании с изониазидом на лекарственно-устойчивые штаммы возбудителя туберкулеза при их безопасном применении в изучаемых дозах [3, 4, 5, 6]. При концентрации изониазида 1 мкг/мл и наночастиц серебра 5 мкг/мл полное и значительное подавление роста мультирезистентных штаммов МБТ *in vitro* наблюдалось в 91,2% случаев. Как показали наши исследования, потенцирующее действие наночастицы серебра оказывали на все известные противотуберкулезные химиопрепараты. Для эксперимента *in vivo* был выбран изониазид с учетом наличия его растворимой формы и высокой клинической актуальности. Полученные результаты по использованию в лечении экспериментального туберкулеза наночастиц серебра показали их потенцирующее действие на изониазид по преодолению лекарственной устойчивости МБТ и способствовали повышению индекса выживаемости инфицированных животных [3, 4]. Наиболее информативными показателями эффективности лечения экспериментального туберкулеза являются бактериологические критерии, в частности, индекс поражения органов-мишеней, бактериоскопический показатель и индекс высеваемости МБТ из пораженных органов (легкие, печень, почки, селезенка).

Цель исследования

Оценить эффективность применения наночастиц серебра в лечении экспериментального туберкулеза с лекарственной устойчивостью возбудителя по бактериологическим критериям.

Материалы и методы исследования

Наночастицы серебра получали электрохимическим методом, средний размер наночастиц составлял 3–60 нм. Протокол исследования соответствовал Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ [9]. Модель экспериментального туберкулеза создавали у 68 белых мышей-самцов имбредной линии BALB/c, полученных из питомника вивария Центрального НИИ туберкулеза. Возраст мышей – 2–2,5 месяца, масса – 24–25 г.

Таблица 1. Группы экспериментальных животных

Группа животных	Количество животных	Условия эксперимента
Контрольные группы		
K _A	5	Неинфицированные
K _Б	10	Инфицированные, не получавшие лечения
K _В	10	Лечение изониазидом в дозе 50 мг/кг
Опытная группа 1 (лечение только наночастицами серебра)		
O _{1-12,5}	5	Доза наночастиц 12,5 мкг/кг
O ₁₋₂₅	5	Доза наночастиц 25 мкг/кг
O ₁₋₅₀	5	Доза наночастиц 50 мкг/кг
O ₁₋₁₂₅	5	Доза наночастиц 125 мкг/кг
Всего	20	
Опытная группа 2 (лечение изониазидом и наночастицами серебра)		
O _{2-12,5}	5	Изониазид 50 мг/кг+НЧ 12,5 мкг/кг
O ₂₋₂₅	5	Изониазид 50 мг/кг+НЧ 25 мкг/кг
O ₂₋₅₀	5	Изониазид 50 мг/кг+НЧ 50 мкг/кг
O ₂₋₁₂₅	5	Изониазид 50 мг/кг+НЧ 125 мкг/кг
Всего	20	

Инфицирующая доза для одной мыши составляла 5×10^6 колониеобразующих единиц (КОЕ) двухнедельной вирулентной культуры штамма *M. tuberculosis*, выделенного от больного туберкулезом с МЛУ МБТ. Лекарственную устойчивость МБТ к противотуберкулезным препаратам определяли методом абсолютных концентраций. Штамм микобактерий считали устойчивым при росте более 20 колоний на среде с препаратом в максимальной концентрации. Возбудитель был устойчив к противотуберкулезным препаратам основного ряда – изониазиду, рифампицину, этамбутолу, стрептомицину. Подопытных животных заражали указанной выше дозой возбудителя в 0,2 мл раствора в область ретроорбитального синуса. Группы наблюдения экспериментальных животных представлены в таблице 1.

Индекс поражения рассчитывали при макроскопической оценке пораженных органов для каждой группы по четырехбалльной системе, предложенной Г.Н. Першиным в модификации А.Н. Тогуновой:

- 1–3 мелких очага в легких +/- (0)
- 4–10 мелких полупрозрачных очагов в легких при отсутствии видимой патологии в печени и селезенке + (1)
- 10–20 хорошо выраженных очагов в легочной ткани и единичные – в печени и селезенке ++ (2)
- 20 и более крупных очагов в легких (0,5 см в диаметре), множественные очаги в печени и селезенке +++ (3)
- кавернозно-некротические поражения легких, кахексия, гибель животного ++++ (4)

Таблица 2. Индексы поражения внутренних органов мышей контрольных и экспериментальных групп (отдельных особей и в целом по группам)

№ мыши	Группы животных										
	Контрольные группы			Опытная группа 1 (лечение только наночастицами серебра)				Опытная группа 2 (лечение изониазидом и наночастицами серебра)			
	K _A	K _B (инфицированные, без лечения)	K _B (лечение изониазидом, 50 мг/кг)	O _{1–12,5}	O _{1–25,0}	O _{1–50,0}	O _{1–125,0}	O _{2–12,5}	O _{2–25,0}	O _{2–50,0}	O _{2–125,0}
1	Неинфицированные (5 шт.)	2	2	2	2	2	2	1	0	1	2
2		2	3	2	1	2	2	0	0	0	1
3		3	1	1	2	1	1	1	1	1	1
4		3	2	3	2	2	3	0	0	2	1
5		2	2	2	3	3	1	0	0	0	0
6		3	3								
7		2	1								
8		4	3								
9		3	1								
10		3	2								
M ± m		2,70 ± 0,22	2,00 ± 0,27	2,00 ± 0,36	2,00 ± 0,32	2,00 ± 0,36	2,00 ± 0,41	0,40 ± 0,28	0,20 ± 0,23	0,80 ± 0,42	1,00 ± 0,36
				1,95 ± 0,17				0,60 ± 0,15			

Бактериоскопический показатель рассчитывали как среднее значение общего количества микобактерий на группу. Из гомогенатов органов готовили мазки и определяли наличие кислотоустойчивых микобактерий методом люминесцентной микроскопии. Результаты бактериоскопии учитывали по четырехбалльной системе, предложенной Г.Н. Першиным:

- от 1 КУМ в 100 полях зрения (п/з) до 10 КУМ в 100 п/з +/- (0)
- от 1 КУМ в 10 п/з до 1 КУМ в 1 п/з + (1)
- 2–10 КУМ в 1 п/з ++ (2)
- 11–50 КУМ в 1 п/з +++ (3)
- свыше 50 КУМ в 1 п/з ++++ (4)

Индекс высеваемости микобактерий туберкулеза определяли как среднее из общего количества колониеобразующих единиц на каждую группу. Для определения высеваемости микобактерий туберкулеза равновеликие кусочки легкого, печени, селезенки и почки каждой мыши предварительно взвешивали; затем ткань органа растирали в фарфоровой ступке и заливали для деконтаминации неспецифической флоры 5 мл 6% раствора серной кислоты, гомогенизировали. Полученную массу быстро переносили в центрифужную пробирку и центрифугировали в течение 10 минут при 3000 оборотов; затем серную кислоту сливали, осадок дважды отмывали 0,9% раствором NaCl, в осадок добавляли несколько капель физиологического раствора до достижения pH 5,5–7,0 и сеяли в две пробирки со средами Левенштейна-Йенсена и «Новая». Пробирки с посевами инкубировали в термостате при 37 °C в течение 10–12 недель. Интенсивность роста культуры определяли по четырехбалльной системе, предложенной Г.Н. Першиным:

- 1–3 колонии на 1 косяке с плотной средой +/- (0)
- 4–10 колоний на 1 косяке с плотной средой + (1)

- 11–30 колоний на 1 косяке с плотной средой ++ (2)
- 30–100 колоний на 1 косяке с плотной средой +++ (3)
- сплошной рост колоний на 1 косяке с плотной средой ++++ (4)

Лечение начинали через 14 дней после заражения. Препараты вводили ежедневно внутримышечно. После выведения животных из эксперимента в соответствии с нормами и документами, регламентирующими проведение научных исследований с использованием экспериментальных животных, производили забор кусочков заинтересованных внутренних органов (легкие, печень, почки, селезенка) для бактериологического исследования.

Статистическую обработку материала проводили с использованием программ Microsoft Excel 2013 и STATISTICA 10. Рассчитывали среднее значение показателя и величину средней ошибки. Достоверность показателей оценивали с помощью коэффициента Стьюдента, считая различия достоверными при вероятности 95% и более ($p < 0,05$).

Результаты исследования

Результаты расчета **индекса поражения** внутренних органов животных представлены в табл. 2. Наибольший индекс поражения, отражающий распространенность и тяжесть специфических изменений, наблюдали в группе зараженных и не получавших лечение мышей – $2,7 \pm 0,22$ усл. ед. В этой группе у животных макроскопически отмечали хорошо выраженные очаги в легочной ткани, у ряда особей очаги имели крупные размеры до 0,4–0,5 см в диаметре, наблюдали кавернозно-некротические поражения. В печени и селезенке у большинства животных имелись очаговые изменения различной протяженности.

Таблица 3. Бактериоскопические показатели исследования легочной ткани мышей контрольных и экспериментальных групп (отдельных особей и в целом по группам)

№ мыши	Группы животных										
	K_A	K_B (инфицированные, без лечения)	K_B (лечение изониазидом, 50 мг/кг)	$O_{1-12,5}$	$O_{1-25,0}$	$O_{1-50,0}$	$O_{1-125,0}$	$O_{2-12,5}$	$O_{2-25,0}$	$O_{2-50,0}$	$O_{2-125,0}$
1	Неинфицированные (5 шт.)	2	3	2	2	3	2	0	1	1	0
2		3	2	2	2	2	3	1	0	1	1
3		3	1	2	3	3	2	0	0	1	1
4		4	2	2	2	2	3	1	0	0	1
5		2	1	3	1	2	3	1	0	1	2
6		2	2								
7		4	1								
8		3	1								
9		3	2								
10		2	2								
$M \pm m$		$2,80 \pm 0,26$	$1,70 \pm 0,22$	$2,20 \pm 0,23$	$2,00 \pm 0,36$	$2,40 \pm 0,28$	$2,60 \pm 0,28$	$0,60 \pm 0,28$	$0,20 \pm 0,23$	$0,80 \pm 0,23$	$1,00 \pm 0,36$
				$2,35 \pm 0,13$				$0,65 \pm 0,13$			

В контрольной группе животных K_B , где проводили лечение изониазидом в дозе 50 мг/кг, индекс поражения составил $2,0 \pm 0,27$ усл. ед. В легочной ткани этих животных отчетливо наблюдали очаговые изменения, имелись специфические поражения других паренхиматозных органов.

Суммарный индекс поражения внутренних органов у животных в первой опытной группе (O_1), получавших наночастицы серебра в изолированном варианте, составил $1,95 \pm 0,17$ усл. ед., что отражало наличие у большинства животных хорошо выраженных очагов в легочной ткани и чаще – единичных очагов в печени и селезенке.

Наименьшую пораженность наблюдали у животных второй опытной группы (O_2) при использовании в лечении нанокон-
позита (изониазид и наночастицы серебра). Общий индекс по

группе составил $0,60 \pm 0,15$ усл. ед., при этом доза наночастиц 25 мкг/кг явилась оптимальной и позволила снизить индекс поражения до $0,20 \pm 0,23$ усл. ед. Макроскопически при этом имелись единичные мелкие очаги в легких без видимой патологии в печени и селезенке. Разница показателей между группами животных O_2 и O_1 , O_2 и K_B , O_2 и K_B статистически достоверна ($p < 0,05$). Разница показателей между O_1 и K_B , O_1 и K_B , K_B и K_B не была статистически достоверна ($p > 0,05$).

Результаты оценки **бактериоскопического показателя** из легочной ткани экспериментальных животных представлены в табл. 3. Наиболее приоритетными показателями по данным бактериоскопии оказались результаты второй экспериментальной группы, где у животных в лечении использовался нанокон-
композит. Следует отметить, что по результативности также

Таблица 4. Индексы высеваемости МБТ из легочной ткани мышей контрольных и экспериментальных групп (отдельных особей и в целом по группам)

№ мыши	Группы животных										
	K_A	K_B (инфицированные, без лечения)	K_B (лечение изониазидом, 50 мг/кг)	$O_{1-12,5}$	$O_{1-25,0}$	$O_{1-50,0}$	$O_{1-125,0}$	$O_{2-12,5}$	$O_{2-25,0}$	$O_{2-50,0}$	$O_{2-125,0}$
1	Неинфицированные (5 шт.)	3	2	3	3	3	3	1	1	1	1
2		4	3	2	3	3	3	1	0	2	2
3		3	2	3	2	3	3	0	1	1	2
4		4	2	3	2	2	3	1	1	1	2
5		3	2	3	2	3	3	2	0	2	1
6		4	3								
7		4	3								
8		3	1								
9		4	3								
10		4	2								
$M \pm m$		$3,60 \pm 0,17$	$2,30 \pm 0,22$	$2,80 \pm 0,23$	$2,40 \pm 0,28$	$2,80 \pm 0,23$	$3,0 \pm 0,0$	$1,00 \pm 0,36$	$0,60 \pm 0,28$	$1,40 \pm 0,28$	$1,60 \pm 0,28$
				$2,75 \pm 0,10$				$1,15 \pm 0,02$			

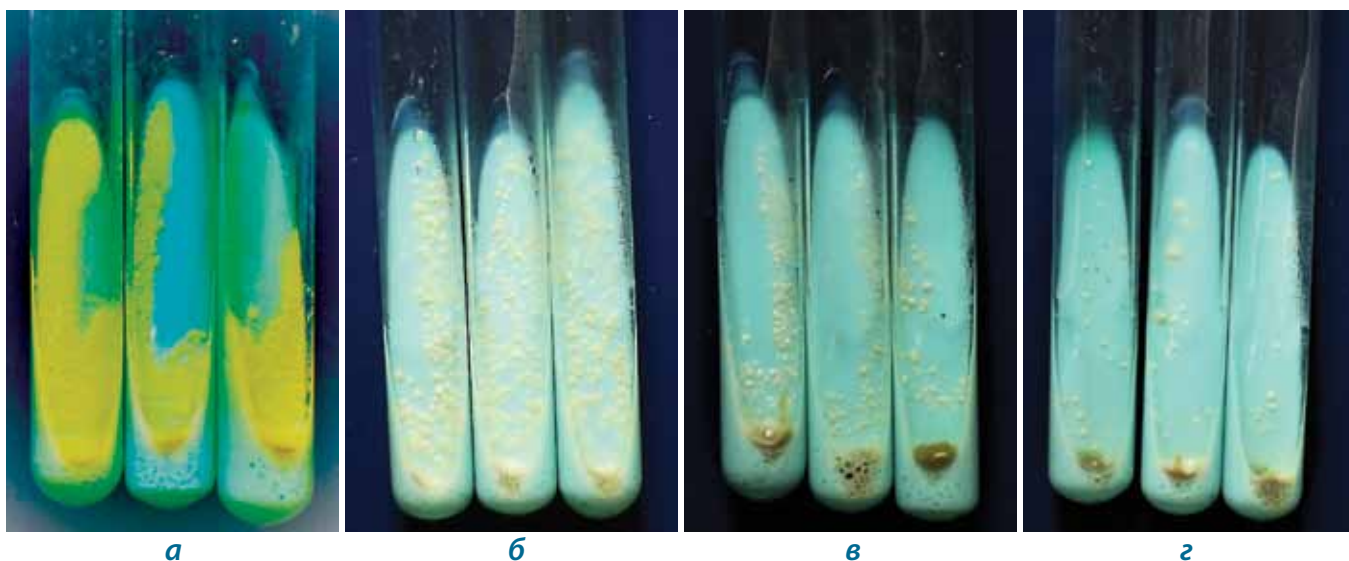


Рис. 1. Посевы из легочной ткани животных при разных режимах лечения: а – без лечения; б – изониазид; в – наночастицы серебра; з – наночастицы в сочетании с изониазидом

лидирует подгруппа экспериментальных животных, у которых в лечении использовались наночастицы в дозе 25 мкг/кг. Разница между показателями O_2 и O_1 , O_2 и K_6 , O_2 и K_8 статистически достоверна ($p < 0,05$). Между другими показателями статистически значимые различия не выявлены.

Показатели индекса высеваемости из легочной ткани животных разных экспериментальных групп представлены в табл. 4. В группе животных K_6 , не подвергавшихся лечению (рис. 1а), при индексе $3,60 \pm 0,17$ наблюдался сплошной рост МБТ.

При лечении изониазидом индекс высеваемости составил $2,30 \pm 0,22$ усл. ед., что соответствует по шкале Г.Н. Першина росту на 1 косяке плотной питательной среды от 31 до 100 колоний МБТ (рис. 1б). При использовании в лечении зараженных мышей изолированных наночастиц серебра индекс высеваемости МБТ из легочной ткани составил $2,75 \pm 0,1$ усл. ед., (рис. 1в), что несколько хуже показателя при лечении изониазидом ($2,30 \pm 0,22$ усл. ед.).

Наименьший индекс высеваемости МБТ наблюдали в группе животных при лечении наноккомпозитом (изониазид +

наночастицы серебра). В целом по группе он составил $1,15 \pm 0,02$ усл. ед. Полученный показатель соответствовал росту на 1 косяке от единичных до 20–30 колоний *M. tuberculosis*. При этом наибольшая эффективность имела место при дозировке наночастиц 25 мкг/кг массы животного (рис. 1г), когда индекс высеваемости составил $0,6 \pm 0,28$ усл. ед.

Результаты высеваемости *M. tuberculosis* из легочной ткани экспериментальных животных при различных режимах лечения представлены на рис. 2. Разница показателей высеваемости при лечении наноккомпозитом в сравнении с другими группами животных статистически достоверна ($p < 0,05$).

Таким образом, результаты исследований по критерию высеваемости возбудителя из легочной ткани мышей, инфицированных лекарственно-устойчивым штаммом МБТ, статистически достоверно свидетельствуют о наибольшей эффективности применения в лечении экспериментального туберкулеза наночастиц серебра в сочетании с противотуберкулезным препаратом изониазидом. Эффективность применения наноккомпозита по индексу высеваемости превосходила

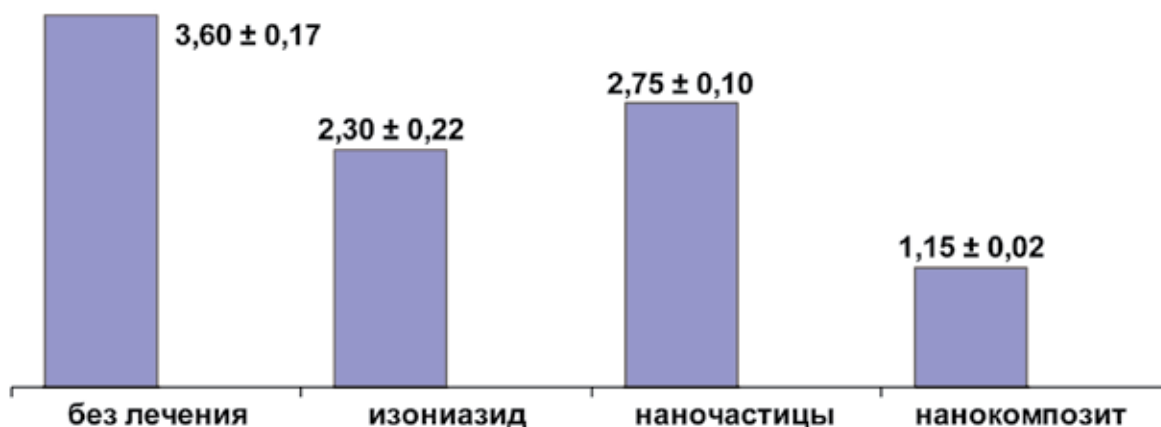


Рис. 2. Индексы высеваемости МБТ из легочной ткани при разных режимах лечения

Таблица 5. Индексы высеваемости МБТ из печени мышей контрольных и экспериментальных групп (отдельных особей и в целом по группам)

№ мыши	Группы животных										
	K _A	K _B (инфицированные, без лечения)	K _B (лечение изониазидом, 50 мг/кг)	O _{1-12,5}	O _{1-25,0}	O _{1-50,0}	O _{1-125,0}	O _{2-12,5}	O _{2-25,0}	O _{2-50,0}	O _{2-125,0}
1	Неинфицированные (5 шт.)	2	0	2	1	3	3	1	0	1	1
2		4	2	1	2	2	2	1	0	1	1
3		1	2	2	1	3	1	0	0	1	1
4		2	2	2	2	1	2	1	1	0	1
5		3	1	2	2	3	3	0	0	0	0
6		3	2								
7		2	2								
8		4	1								
9		2	2								
10		3	3								
M ± m		2,60 ± 0,32	1,70 ± 0,27	1,80 ± 0,23	1,60 ± 0,28	2,40 ± 0,45	2,20 ± 0,42	0,60 ± 0,28	0,20 ± 0,23	0,60 ± 0,28	0,80 ± 0,23
				2,00 ± 0,17				0,55 ± 0,12			

результаты лечения изолированным изониазидом в два раза, а изолированными наночастицами серебра – в 2,4 раза.

Результаты повторного определения лекарственной устойчивости МБТ, полученных из органов животных, свидетельствуют о том, что спектр резистентности возбудителя не отличался от спектра устойчивости тех микобактерий, которыми инфицировали животных. Таким образом, бактериологические свойства *M. tuberculosis* по параметру резистентности в ходе эксперимента не менялись. Полученные результаты позволяют предположить потенцирующее действие наночастиц серебра на изониазид по преодолению лекарственной устойчивости *M. tuberculosis*.

Поражение туберкулезом экстраторакальных органов отражает степень генерализации и тяжесть специфического процесса. Результаты высеваемости МБТ из печени экспериментальных

животных представлены в табл. 5. Максимальный индекс высеваемости – 2,60 ± 0,32 усл. ед. – наблюдали в группе мышей, не получавших лечения. Наименьшую высеваемость МБТ из печени экспериментальных животных также отметили при использовании наночастиц серебра в дозе 25 мг/кг в сочетании с изониазидом в дозе 50 мг/кг – 0,20 ± 0,23 усл. ед. Суммарный показатель в первой экспериментальной группе (O₁) составил 2,00 ± 0,17 усл. ед., во второй (O₂) – 0,55 ± 0,12 усл. ед. Разница между O₂ и O₁, O₂ и K_B, O₂ и K_B статистически достоверна (p < 0,05).

Показатели высеваемости МБТ из почек (табл. 6) оказались ниже аналогичных показателей, полученных при исследовании печени. Вместе с тем результаты, приведенные в табл. 6, подтверждают тенденцию более эффективного применения в лечении экспериментального туберкулеза противотуберкулезного нанокompозита.

Таблица 6. Индексы высеваемости МБТ из почек мышей контрольных и экспериментальных групп (отдельных особей и в целом по группам)

№ мыши	Группы животных										
	K _A	K _B (инфицированные, без лечения)	K _B (лечение изониазидом, 50 мг/кг)	O _{1-12,5}	O _{1-25,0}	O _{1-50,0}	O _{1-125,0}	O _{2-12,5}	O _{2-25,0}	O _{2-50,0}	O _{2-125,0}
1	Неинфицированные (5 шт.)	3	1	1	1	1	2	0	0	0	1
2		2	0	2	2	1	1	0	0	0	0
3		4	0	1	1	2	2	0	0	0	0
4		2	3	1	0	2	1	0	0	1	0
5		3	1	1	1	1	1	1	0	0	1
6		2	1								
7		3	1								
8		3	2								
9		3	1								
10		2	2								
M ± m		2,70 ± 0,22	1,20 ± 0,31	1,20 ± 0,23	1,00 ± 0,36	1,40 ± 0,28	1,40 ± 0,28	0,20 ± 0,23	0,0 ± 0,0	0,20 ± 0,23	0,40 ± 0,28
				1,25 ± 0,13				0,20 ± 0,09			

Таблица 7. Индексы высеваемости МБТ из селезенки мышей контрольных и экспериментальных групп (отдельных особей и в целом по группам)

№ мыши	Группы животных										
	K_A	K_B (инфицированные, без лечения)	K_B (лечение изониазидом, 50 мг/кг)	$O_{1-12,5}$	$O_{1-25,0}$	$O_{1-50,0}$	$O_{1-125,0}$	$O_{2-12,5}$	$O_{2-25,0}$	$O_{2-50,0}$	$O_{2-125,0}$
1	Неинфицированные (5 шт.)	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0
2		0	0	1	0	1	1	1	0	1	0
3		1	0	0	1	0	1	0	0	0	0
4		2	2	1	0	1	0	0	0	0	1
5		2	1	1	1	1	1	0	0	0	0
6		1	1								
7		1	0								
8		0	0								
9		0	1								
10		1	1								
$M \pm m$		$0,90 \pm 0,25$	$0,60 \pm 0,23$	$0,60 \pm 0,28$	$0,40 \pm 0,28$	$0,80 \pm 0,23$	$0,80 \pm 0,23$	$0,20 \pm 0,23$	$0,0 \pm 0,0$	$0,20 \pm 0,23$	$0,20 \pm 0,23$
				$0,65 \pm 0,11$				$0,15 \pm 0,03$			

Суммарный индекс высеваемости во второй экспериментальной группе животных, где применялся нанокомпозит, составил $0,20 \pm 0,09$ усл. ед. Данный показатель статистически достоверно отличается от аналогичных результатов, полученных у животных других экспериментальных групп ($p < 0,01$). Причем в данном исследовании также наблюдается оптимальный дозозависимый противотуберкулезный эффект нанокомпозита с дозировкой наночастиц 25 мкг/кг массы тела животного. Нулевой индекс высеваемости, полученный при данной дозировке наночастиц в составе композита, отражает минимальную интенсивность роста МБТ, не превышающую 1–3 колоний на одном косяке с плотной средой.

В табл. 7 приведены результаты высеваемости МБТ из селезенки экспериментальных мышей. Полученные показатели подтверждают превосходящую противотуберкулезную активность нанокомпозита. При этом комбинация изониазида с наночастицами в дозе 25 мкг/кг массы животного обеспечила минимальный показатель высеваемости возбудителя из органа-мишени. Суммарный показатель во второй опытной группе составил $0,15 \pm 0,03$ усл. ед., который статистически достоверно отличается от показателей высеваемости из селезенки животных других экспериментальных групп.

Выводы

1. По индексу поражения внутренних органов наибольшая эффективность лечения экспериментального туберкулеза отмечена при использовании нанокомпозита. Дозировка нано-

частиц в составе композита, равная 25 мкг/кг массы животного, обеспечила лучшие результаты лечения при минимальном индексе поражения.

2. Проведенный анализ показателей бактериоскопии и индексов высеваемости возбудителя из легочной ткани животных при разных режимах химиотерапии свидетельствует о лечебных преимуществах нанокомпозита. При этом разница показателей между второй группой животных, где применялся нанокомпозит, и другими экспериментальными группами статистически достоверна ($p < 0,05$).

3. Бактериологические критерии, основанные на исследовании экстраторакальных органов (печень, почки, селезенка), также демонстрируют лидирующие позиции показателей, полученных при лечении животных нанокомпозитом. При этом разница показателей статистически достоверна ($p < 0,05$).

4. Установлен дозозависимый характер эффективности лечения от присутствия наночастиц серебра в составе композита. Наибольшую эффективность продемонстрировал нанокомпозит с содержанием наночастиц в дозе 25 мкг/кг.

5. Проведенные исследования по изучению эффективности применения наночастиц серебра в лечении экспериментального туберкулеза с МЛУ МБТ по критериям поражения внутренних органов и бактериологическим параметрам показали, что наночастицы серебра способны потенцировать химиотерапию туберкулеза изониазидом по преодолению устойчивости возбудителя.

Литература

1. Борисов С.Е., Иванушкина Т.Н., Иванова Д.А. и др. Решение задачи этиотропного лечения больных туберкулезом с множественной и широкой лекарственной устойчивостью возбудителя // Тез. Всерос. научно-практ. конф. с межд. участием «Туберкулез в XXI веке: новые задачи и современные решения», 1–2 июня 2016 г. – М., 2016. – С. 22–23.

2. Васильева И.А., Самойлова А.Г., Эргешов А.Э. Химиотерапия туберкулеза: проблемы и перспективы // Вестник Российской Академии медицинских наук. – 2012. – № 11. – С. 9-14.
3. Захаров А.В., Кибрик Б.С., Павлов А.В. Эффективность лечения экспериментального туберкулеза с использованием наночастиц серебра // Туберкулез и болезни легких. – 2011. – № 4. – С. 151-152.
4. Кибрик Б.С., Павлов А.В., Захаров А.В., Крейцберг Г.Н. Экспериментальное обоснование преодоления резистентности возбудителя туберкулеза нанокмполитом изониазида и наночастиц серебра // Экспер. и клинич. фармакология. – 2011. – Том 74. – № 4. – С. 24-26.
5. Кибрик Б.С., Павлов А.В., Захаров А.В., Соснина О.Ю. Новые подходы к лечению больных туберкулезом с лекарственной устойчивостью возбудителя с использованием наночастиц серебра // Туберкулез и болезни легких. – 2011. – № 11. – С. 37-41.
6. Кибрик Б.С., Павлов А.В., Захаров А.В. и др. Токсикологическая оценка нанокмполита для лечения лекарственно-устойчивого туберкулеза // Токсикологический вестник. – 2012. – № 3. – С. 28-33.
7. Малафеева Э.В., Хохлов А.А., Хохлов А.Л. и др. Антимикробная и токсикологическая характеристика антибактериальной мази с наночастицами серебра // Ремедиум. – 2011. – № 4. – С. 96-97.
8. Отраслевые и экономические показатели противотуберкулезной работы в 2014–2015 гг. Аналитический обзор основных показателей и статистические материалы / под ред. С.А. Стерликова. – М.: РИО ЦНИИОИЗ, 2016. – 89 с.
9. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общей ред. Р.У. Хабриева. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 832 с.
10. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению туберкулеза органов дыхания с множественной и широкой лекарственной устойчивостью / РОФ. – Изд. 3-е. – М., 2015. [Электронный ресурс] URL: <http://roftb.ru>. (Дата обращения 07.05.2017).
11. Хохлов А.Л., Крейцберг Г.Н., Завойский И.В. и др. Исследование антибактериальной эффективности коллоидных растворов наночастиц серебра // Новости здравоохранения. – 2007. – № 2. – С. 55-59.
12. Banu A., Rathod V. Biosynthesis of monodispersed silver nanoparticles and their activity against *Mycobacterium tuberculosis* // J. Nanomed Biotherapeut. Disc. – 2013. – Vol. 3. – N. 1. [Электронный ресурс] URL: <http://dx.doi.org/10.4172/2155-983X.1000110>. (Дата обращения 07.05.2017).
13. Niakan S., Niakan M., Hesarak S. et al. Comparison of the antibacterial effects of nanosilver with 18 antibiotics on multidrug resistance clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* // Jundishapur J. Microbiology. – 2013. – Vol. 6. – N. 5. – P. 1-5.
14. Radzig M.A., Nadtochenko V.A., Koksharova O.A. et al. Antibacterial effects of silver nanoparticles on gram-negative bacterial: Influence on the growth and biofilms formation, mechanisms of action // Colloids Surf. B: Biointerfaces. – 2013. – Vol. 102. – P. 300-306.
15. Savithramma N., Linga Rao M., Rukmini K. et al. Antimicrobial activity of silver nanoparticles synthesized by using medicinal plants // Int. J. Chem. Tech. Research. – 2011. – Vol. 3. – N. 3. – P. 1394-1402.
16. Seth D., Sarkar A., Mitra D. Nanomedicine to counter syndemic tuberculosis and HIV infection: current knowledge and state of art // Nanoscience and Nanoengineering. – 2014. – Vol. 2. – N. 1. – P. 1-9.
17. Shegokar R., Al Shaal L., Mitri K. Present of nanoparticle research for treatment of tuberculosis // J. Pharm. Sci. – 2011. – Vol. 14. – N. 1. – P. 100-116.
18. Zhang Z., Lu J., Wang Y. et al. Prevalence and molecular characterization of fluoroquinolone-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in China // Antimicrob. Agents Chemother. – 2014. – Vol. 58. – N. 1. – P. 364-369.

Сведения об авторах

Захаров Андрей Владимирович – заведующий отделением ГБУЗ Ярославской области «Областная клиническая туберкулезная больница», кандидат медицинских наук

Адрес: 150000, г. Ярославль, ул. Собинова, д. 43

Тел. + 7 (4852) 43-91-76, факс. + 7 (4852) 43-97-25

e-mail: Yrzahan@mail.ru

Эргешов Атаджан Эргешович – директор ФГБНУ «Центральный НИИ туберкулеза», доктор медицинских наук, профессор

Адрес: 107564, г. Москва, Яузская аллея, д. 2

Тел. + 7 (499) 785-90-19

e-mail: cnit@ctri.ru

Хохлов Александр Леонидович – заведующий кафедрой клинической фармакологии с курсом института последипломного образования ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет Минздрава России», доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН

Адрес: 150000, г. Ярославль, ул. Революционная, д. 5

Тел. + 7 (4852) 45-84-61

e-mail: al460935@yandex.ru

Кибрик Борис Семенович – профессор кафедры туберкулеза ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет Минздрава России», доктор медицинских наук, профессор

Адрес: 150000, г. Ярославль, ул. Революционная, д. 5

Тел. + 7 (4852) 48-41-38

Соснина Ольга Юрьевна – заведующая бактериологической лабораторией ГБУЗ Ярославской области «Областная клиническая туберкулезная больница»

Адрес: 150000, г. Ярославль, ул. Собинова, 43

Тел. + 7 (4852) 30-61-88