

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ПО ИЗЫСКАНИЮ НОВЫХ
АНТИБИОТИКОВ имени Г.Ф. ГАУЗЕ»

На правах рукописи



Алиева Камилла Натиговна

**ПРОГНОЗИРОВАНИЕ РАЗВИТИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ
STAPHYLOCOCCUS AUREUS
В ЭКСПЕРИМЕНТАХ С ЛИНЕЗОЛИДОМ
И ЕГО КОМБИНАЦИЕЙ С ДАПТОМИЦИНОМ
В ДИНАМИЧЕСКОЙ СИСТЕМЕ *IN VITRO***

14.03.07 – Химиотерапия и антибиотики

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2021

Работа выполнена в лаборатории Фармакокинетики и фармакодинамики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе» (ФГБНУ «НИИНА»).

Научный

Фирсов Александр Алексеевич

руководитель:

Доктор биологических наук, профессор

Голикова Мария Владимировна

Кандидат биологических наук, заведующий лабораторией фармакокинетики и фармакодинамики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г. Ф. Гаузе».

**Официальные
оппоненты:**

Литвин Александр Алексеевич

Доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории фармакокинетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В. В. Закусова»

Раменская Галина Владиславовна

Доктор фармацевтических наук, профессор, Директор Института фармации им. А. П. Нелюбина и заведующий кафедрой фармацевтической и токсикологической химии им. А. П. Арзамасцева Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

**Ведущая
организация:**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства»

Защита состоится «26» октября 2021 г. В 14:00 часов на заседании диссертационного совета Д 001.005.01 на базе ФГБНУ «НИИНА» по адресу: 119021, Москва, ул. Большая Пироговская, дом 11, строение 1, аудитория 22.

С авторефератом диссертации можно ознакомиться на интернет-сайте ВАК РФ <https://vak.minobrnauki.gov.ru/> и на интернет-сайте ФГБНУ «НИИНА» <https://www.gause-inst.ru/>.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-технической библиотеке ФГБНУ «НИИНА» по адресу: 119021, Москва, ул. Большая Пироговская, дом 11, строение 1, и на интернет-сайте <https://www.gause-inst.ru/>.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2021 г.

Учёный секретарь диссертационного совета,
К.б.н.



О. В. Ефременкова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования.

Снижение чувствительности возбудителей инфекционных заболеваний к старым антибиотикам на фоне замедления темпов создания новых препаратов – это серьёзная проблема современного здравоохранения. Одним из путей предотвращения развития устойчивости бактерий к антибиотикам является оптимизация их применения. В основе оптимизации антибиотикотерапии лежит знание зависимости «резистентность – концентрация». До настоящего времени данные о развитии резистентности возбудителей инфекционных заболеваний, полученные в клинике, не удалось связать с фармакокинетическими параметрами антимикробных препаратов. Одним из перспективных направлений исследований, которое позволяет изучать такие зависимости, является фармакокинетико-фармакодинамическое моделирование, основным инструментом которого являются динамические системы *in vitro*. При помощи таких систем оказывается возможным изучать закономерности развития резистентности бактерий под воздействием антибиотика в условиях его меняющейся концентрации так, как это происходит у человека. Исследования в динамических системах позволяют: устанавливать зависимость между резистентностью и фармакокинетико-фармакодинамическими параметрами антибиотика, прогнозировать развитие резистентности бактерий при клинических режимах антибиотикотерапии, определять пороговые значения фармакокинетико-фармакодинамических параметров, при которых наблюдается подавление развития резистентности бактерий. На сегодняшний день наиболее подробно в этом аспекте были изучены антибиотики группы фторхинолонов. По результатам исследований с этими антибиотиками была выдвинута гипотеза существования «окна селекции мутантов» (Zhao, Drlica, 2001; Drlica, 2003) и неоднократно подтверждена ее применимость (Firsov et al., 2003, 2013; Zinner et al., 2003, 2013; Tam et al., 2007; Gebru et al., 2011). Согласно данной гипотезе обогащение микробной популяции устойчивыми клетками наиболее вероятно, когда концентрации воздействующего на неё антибиотика находятся в диапазоне, нижний предел которого – минимальная подавляющая концентрация препарата в отношении микроорганизма-мишени (МПК), а верхний – минимальная концентрация, предотвращающая рост устойчивых мутантов, присутствующих в бактериальной популяции (МПК_М). После того как гипотеза «окна селекции мутантов» (ОСМ) была сформулирована, в исследованиях с фторхинолонами впервые был установлен куполообразный вид зависимости между резистентностью и ПФК/ПМК или ПФК/МПК_М (площадью под фармакокинетической кривой изменения концентрации антибиотика, ПФК, отнесённой, соответственно, к МПК или МПК_М данного препарата в отношении микроорганизма-мишени) (Firsov 2003, Tam et al., 2007; Gebru et al., 2011; Firsov et al., 2013, 2014, 2015a; Strukova et al., 2015, 2016). Кроме того, были проведены многочисленные

исследования, направленные на поиск оптимального фармакокинетико-фармакодинамического параметра, применимого для прогнозирования развития резистентности к фторхинолонам при разных режимах их применения, в том числе клинических (Homma et al., 2007; Firsov et al., 2008b, 2013; Liang et al., 2011; Gebru et al., 2011; Strukova et al., 2016a, 2016b). Применительно к антибиотикам других классов эти вопросы во многом остались нерешёнными. В этой связи проведение подобных исследований с другими препаратами, в частности, с антибиотиками новых классов, например, линезолидом, весьма актуально. Это приобретает особенную важность в связи с систематическим появлением новых сообщений о выделении в клинике резистентных к линезолиду энтерококков (Seedat et al., 2006; Knoll et al., 2013; de Almeida et al., 2014; Yu et al., 2014) и стафилококков (Locke et al., 2009a; Yoshida et al., 2009; Hill et al., 2010; Ikeda-Dantsuji et al., 2011).

Комбинированное применение антибиотиков – один из путей борьбы с развитием резистентности к ним бактерий. Как было показано в ряде исследований, проведённых с применением динамических систем *in vitro*, использование комбинаций препаратов, в составе которых был линезолид, позволяет подавить развитие резистентности бактерий, наблюдаемое при применении линезолида в отдельности (Firsov et al., 2017; Zinner et al., 2018).

В связи с вышесказанным установление зависимости между развитием резистентности к линезолиду и его концентрацией, а также оценка возможности подавления селекции устойчивых мутантов на фоне комбинированного применения линезолида с антибиотиками других групп в динамических системах *in vitro* представляется весьма актуальным.

Цель и задачи исследования.

Цель работы – прогнозирование риска развития резистентности *S. aureus* к линезолиду, а также изучение эффекта комбинации линезолида с даптомицином в отношении общей популяции и резистентной субпопуляции золотистого стафилококка в динамической системе *in vitro*.

Для достижения поставленной цели решали следующие **задачи**:

1. Проверить применимость гипотезы существования «окна селекции мутантов» к паре «линезолид – *S. aureus*».
2. Установить зависимость между развитием резистентности золотистого стафилококка к линезолиду и его концентрацией, выраженной при помощи фармакокинетико-фармакодинамических параметров, и выбрать оптимальный параметр для прогнозирования селекции устойчивых к линезолиду мутантов *S. aureus*.
3. Оценить вероятность селекции устойчивых мутантов *S. aureus* при моделировании режима дозирования линезолида, соответствующего терапевтическому.

4. Оценить возможность подавления развития резистентности *S. aureus* при использовании линезолида в комбинации с даптомицином.
5. Оценить применимость различных фармакокинетико-фармакодинамических параметров для прогнозирования риска развития резистентности *S. aureus* на фоне применения линезолида в комбинации с даптомицином.

Научная новизна работы.

Впервые установлены зависимости между селекцией устойчивых к линезолиду мутантов *S. aureus* и фармакокинетико-фармакодинамическими параметрами.

Впервые установлено, что для прогнозирования воздействия линезолида на устойчивые субпопуляции *S. aureus* наиболее применимы параметры ПФК/МПК_М и $T_{>МПКМ}$ (время в % от интервала дозирования, в течение которого концентрация антибиотика превышает уровень МПК_М).

Впервые установлено, что применение линезолида и даптомицина в комбинации позволяет предотвратить селекцию устойчивых к ним мутантов *S. aureus*, наблюдаемую при использовании каждого из препаратов в отдельности.

Впервые доказана применимость параметра $T_{>МПКМ}$ и интегрального параметра, определяемого как площадь, ограниченная фармакокинетическим профилем антибиотика и его МПК_М (ПОМПК_М), для прогнозирования вероятности развития резистентности *S. aureus* к линезолиду и даптомицину при их сочетанном применении.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Подтверждение применимости гипотезы существования «окна селекции мутантов» в отношении всё большего числа пар антибиотик-бактерия свидетельствует о том, что развитие резистентности бактерий к антибиотикам разных классов происходит в соответствии с одними и теми же закономерностями. Знание этих закономерностей, а также зависимостей «резистентность – концентрация», является основой оптимизации режимов антибиотикотерапии с целью предотвращения развития резистентности бактерий.

В настоящей работе была подтверждена применимость гипотезы «окна селекции мутантов» в отношении пары «линезолид – *S. aureus*». Кроме того, применимость данной гипотезы была впервые подтверждена в отношении комбинации линезолида с даптомицином и *S. aureus*. Установлены функциональные зависимости между развитием резистентности и фармакокинетико-фармакодинамическими параметрами. На основании анализа этих зависимостей выбраны параметры, которые можно использовать для прогнозирования развития резистентности золотистого стафилококка к линезолиду – ПФК/МПК_М и $T_{>МПКМ}$, и к комбинации линезолида с даптомицином – $T_{>МПКМ}$ и ПОМПК_М. Определены пороговые значения МПК_М линезолида в отношении изученных штаммов золотистого стафилококка. Эти пороговые значения могут быть применены для оценки возможности развития резистентности у других штаммов этого вида при монотерапии

линезолидом. Отмечен выраженный эффект сочетания линезолида и даптомицина в отношении резистентных клеток *S. aureus* («антимутантный» эффект). Как показало настоящее исследование, применение линезолида в комбинации с даптомицином при терапии стафилококковых инфекций может снизить риск развития устойчивости *S. aureus*.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. . Гипотеза существования «окна селекции мутантов» применима к линезолиду и представителю грамположительных бактерий – *S. aureus*: интенсивность селекции устойчивых к линезолиду мутантов *S. aureus* зависит от положения фармакокинетического профиля антибиотика относительно «окна селекции мутантов».

2. Параметры ПФК/МПК_М и $T_{>МПКМ}$ являются оптимальными для прогнозирования развития резистентности золотистого стафилококка к линезолиду. Зависимость между развитием резистентности стафилококка к линезолиду и параметрами ПФК/МПК_М или $T_{>МПКМ}$ описывается функцией Гаусса или сигмоидной функцией, соответственно.

3. Развитие резистентности *S. aureus* к линезолиду, наблюдаемое при его применении в дозе, соответствующей терапевтической, можно предотвратить путём его сочетанного применения с даптомицином. Развитие резистентности *S. aureus* к даптомицину также подавляется под действием данной комбинации. Эффект комбинации в отношении общей популяции *S. aureus* сравним с таковым даптомицина.

4. Параметры $T_{>МПКМ}$ и ПОМПК_М можно использовать для прогнозирования вероятности развития резистентности бактерий при комбинированном применении линезолида и даптомицина.

Личный вклад автора.

Автор, Алиева Камилла Натиговна, провела обзор, анализ и систематизацию научно-методической литературы, посвященной проблематике работы. Автор определила значения МПК и МПК_М антибиотиков в отношении исследуемых штаммов *S. aureus*, провела лабораторную селекцию мутантов *S. aureus*, выполнила эксперименты с *S. aureus* в динамической системе *in vitro*, моделирующей фармакокинетику линезолида и даптомицина при их введении в отдельности или в комбинации. Обработала и проанализировала результаты экспериментов.

Разработка и постановка экспериментальных научных исследований, изложенных в диссертационной работе, а также анализ полученных результатов исследовательской работы были выполнены автором самостоятельно под руководством д.б.н., профессора Фирсова Александра Алексеевича и к.б.н. Голиковой Марии Владимировны.

Апробация работы.

Основные положения были представлены на международных конгрессах European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), проходивших в Амстердаме (2016 и 2019 г), Вене (2017 г), Мадриде (2018 г); международной онлайн

конференции FEMS Online Conference on Microbiology 2020; Научно-практической конференции молодых учёных «Актуальные вопросы эпидемиологии, диагностики, лечения и профилактики инфекционных и онкологических заболеваний» (Москва, 2018); Научной конференции с международным участием «Вакцинология как ответ биологическим угрозам», посвящённой 100-летию основания НИИВС им. И.И. Мечникова, в секции «Наука в руках молодых учёных: Антибиотики» (Москва, 2019).

Публикации.

По результатам приведённых в настоящей работе исследований опубликовано 6 научных статей, 5 из которых – в журналах, индексируемых Web of Science и Scopus, в том числе 2 статьи в изданиях, входящих в первый квартиль, и 1 статья в издании, входящем во второй квартиль по импакт-фактору согласно рейтингу научных журналов SCImago (SJR, SCImago Journal Rankings); 3 статьи – в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ для публикации результатов диссертационных работ.

Структура и объём работы.

Диссертация состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, двух глав результатов исследований, обсуждения результатов, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка использованной литературы, приложений. Материалы диссертации изложены на 172 страницах, содержат 4 таблицы, 42 рисунка и 6 приложений. Список литературы включает 243 источника, в том числе 231 на иностранном языке.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Обзор литературы

Рассмотрена проблема устойчивости бактерий к антибиотикам, её текущее состояние и пути решения, отмечена важность грамотного и оправданного подхода к применению антибактериальных средств для лечения инфекционных заболеваний. Описан принцип моделирования фармакокинетики антибиотика и одновременного моделирования фармакокинетики нескольких антибиотиков в динамической системе *in vitro*. Проведён анализ результатов фармакокинетико-фармакодинамических исследований в динамических системах *in vitro*, посвященных изучению фармакодинамики антибиотиков, процессов развития резистентности бактерий к антибиотикам, взаимодействия линезолида с даптомицином. Приведена характеристика линезолида и даптомицина: активность, фармакокинетика, фармакодинамика и эффективность в клинике.

Глава 2. Материалы и методы

Питательные среды, вспомогательное оборудование, расходные материалы и антибиотики.

При проведении экспериментов использовали жидкую и плотную питательную среду – бульон Мюллера-Хинтон (МХБ) и агар Мюллера-Хинтон II (МХА II), соответственно, а также ряд вспомогательных материалов. Линезолид был предоставлен компанией Pfizer Corporation (Гротон, США), даптомицин – компанией Cubist Pharmaceuticals, Inc. (Лексингтон, США). В питательных средах, используемых во всех исследованиях с даптомицином, создавали концентрацию ионов Ca^{2+} , соответствующую физиологическому значению в крови человека – 50 мг/л (Hanberger et al., 1991; Carpenter, Chambers, 2004).

Бактериальные штаммы.

В работе использовали 4 штамма *S. aureus*: 479, 688, 2061 и ATCC 700699 (GISA Mu-50). Все штаммы были устойчивыми к метициллину (MRSA). Штамм *S. aureus* ATCC 700699 характеризовался сниженной чувствительностью к ванкомицину, остальные штаммы были к нему чувствительны. Для каждого штамма провели лабораторную селекцию резистентных мутантов путём многократных пересевов на среде с линезолидом при постепенном повышении его концентрации. Методология селекции РМ и их генетического анализа описана в: Струкова, 2010, Firsov et al., 2015b.

Оценка чувствительности *S. aureus* к антибиотикам. Определение МПК и МПК_М.

Значения МПК антибиотиков устанавливали методом серийных разведений в МХБ, обогащённом ионами Ca^{2+} и Mg^{2+} , согласно методике CLSI. Значения МПК_М антибиотиков устанавливали методом разведений в МХА II. Методология описана в: Firsov et al., 2015b. Значения МПК и МПК_М линезолида и даптомицина в присутствии друг друга в отношении штаммов *S. aureus* 2061 и *S. aureus* ATCC 700699 МПК и МПК_М определяли при соотношении их концентраций 1:2 в МХБ и МХА II, соответственно. Такое же соотношение ПФК данных антибиотиков моделировали в экспериментах в динамической системе *in vitro*.

Моделируемые фармакокинетические профили антибиотиков.

В динамической системе *in vitro* моделировали моноэкспоненциальное снижение концентрации антибиотика с установленным в клинических исследованиях периодом полувыведения: 6 ч для линезолида (Moellering, 1999; Stalker, Jungbluth, 2003), 9 ч для даптомицина (Dvorchik et al., 2003). Воспроизведенные фармакокинетические профили соответствовали реализуемым у человека при 5-дневном введении линезолида с интервалом в 12 ч (10 введений) и 5-дневном введении даптомицина с интервалом в 24 ч (5 введений). Моделируемые значения ПФК составили: 15, 30, 60, 120, 240 и 480 мкг/мл×ч для линезолида (режимы Л15, Л30, Л60, Л120, Л240 и Л480, соответственно), 240 и 480 мкг/мл×ч для даптомицина (режимы Д240 и Д480, соответственно). Значения ПФК линезолида и

даптомицина, равные 240 и 480 мкг×ч/мл, соответственно, были близки к клинически реализуемым: ПФК \approx 228 мкг×ч/мл при введении линезолида в дозе 600 мг каждые 12 ч (Meagher et al., 2003) и ПФК \approx 494 мкг×ч/мл при введении даптомицина в дозе 4 мг/кг каждые 24 ч (Dvorchik et al., 2003).

Штаммы *S. aureus* 479, *S. aureus* 688 и *S. aureus* ATCC 700699 подвергали воздействию линезолида при моделировании его ПФК в 32-кратных пределах (режимы Л15-Л480). Штаммы *S. aureus* 2061 и *S. aureus* ATCC 700699 подвергали воздействию линезолида и даптомицина в отдельности (режимы Л240 и Л120, Д480 и Д240) и в комбинации (режимы Л240+Д480 и Л120+Д240).

Динамическая система *in vitro* и воспроизводимость заданных фармакокинетических профилей антибиотиков.

С целью моделирования фармакокинетических профилей антибиотиков и изучения их фармакодинамики использовали динамическую систему *in vitro*. Она состоит из герметичных сосудов (камер) различного назначения, насосов для создания потоков жидкостей между всеми компонентами и системы отбора проб (Рисунок 1). Устройство системы описано в: Firsov et al., 2015b. Принцип работы системы объяснён в: Фирсов и соавт., 1989. Для одновременного моделирования профилей линезолида и даптомицина использовался принцип суперпозиции потоков (Blaser, 1985).

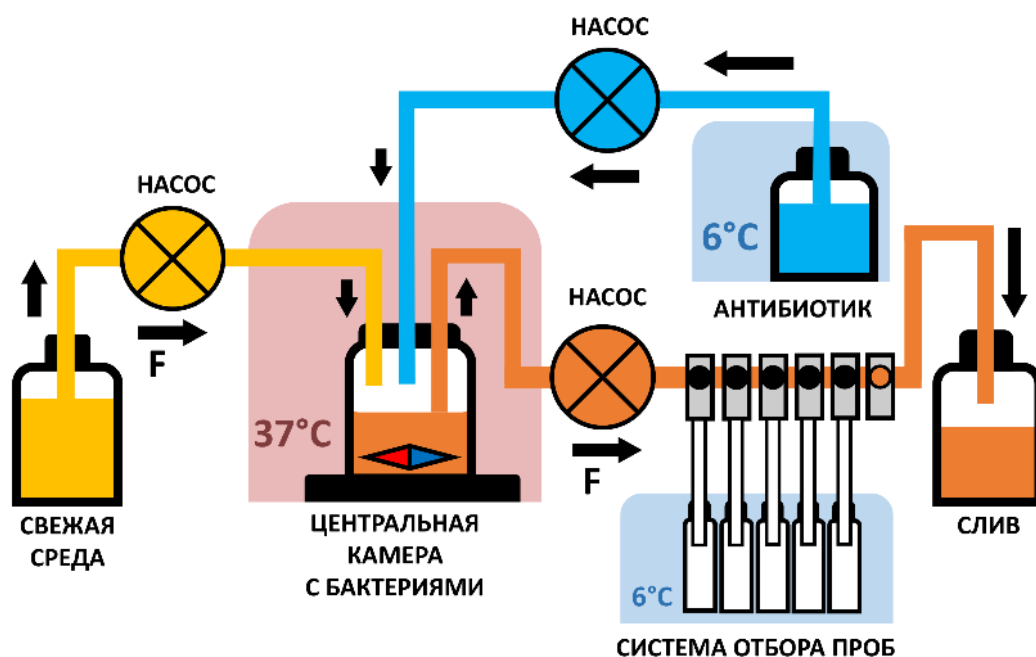


Рисунок 1. Схема динамической системы *in vitro*.

Воспроизводимость заданных фармакокинетических профилей антибиотиков проверяли методом ВЭЖХ. Фактические значения периода полувыведения линезолида и даптомицина при применении в отдельности и в комбинации были близки к заданным.

Регламент эксперимента. Оценка противомикробного эффекта и развития устойчивости.

Центральную камеру заполняли МХБ с 18-часовой бактериальной культурой *S. aureus* и инкубировали при 37°C в течение ~2 ч, затем начинали периодическое введение одного или двух антибиотиков. Все эксперименты проводили: со смешанным инокулятом (соотношение количества РМ к общей численности стафилококков 1:10⁸ КОЕ), в течение 120 ч, не менее чем в двух повторностях. Из ЦК отбирали биопробы, которые высевали на чашки с МХА II без антибиотика, с 2×, 4× и 8×МПК линезолида, с 2× и 4×МПК линезолида или даптомицина (при работе с комбинацией антибиотиков). Чашки инкубировали при температуре 37°C в течение 24-48 ч и подсчитывали число колоний. Нижний предел определения составлял 10³ КОЕ/мл (3 lg КОЕ/мл) и 10 КОЕ/мл (1 lg КОЕ/мл) для чувствительных и резистентных клеток *S. aureus*, соответственно.

При интегральной оценке процессов изменения численности чувствительных и устойчивых бактериальных клеток под воздействием антибиотика использовали параметры ППК (площадь под кинетической кривой изменения общей численности клеток) (Фирсов и соавт., 1985) и ППК_М (площадь под кинетической кривой изменения численности резистентных к антибиотику мутантов) (Firsov et al., 2008a), соответственно. Значения ППК и ППК_М оценивали в интервале времени от начала опыта до его окончания и корректировали, вычитая произведение численности клеток на уровне предела определения на 120 ч.

Анализ зависимости противомикробного эффекта и селекции устойчивых мутантов *S. aureus* от фармакодинамических параметров.

Зависимость ППК_М от ПФК/МПК и от ПФК/МПК_М описывали модифицированной функцией Гаусса

$$Y = Y_0 + a \exp(0,5(|x - x_0|/b)^c), \quad (1)$$

где Y – ППК_М, x – lg (ПФК/МПК) или lg (ПФК/МПК_М), Y_0 – минимальное значение Y , x_0 – значение lg (ПФК/МПК) или lg (ПФК/МПК_М), которое соответствует максимальному значению Y , a , b и c – параметры уравнения.

Зависимость ППК_М от $T_{\text{ОСМ}}$, от $T_{>\text{МПКМ}}$ и от ПОМПК_М описывали сигмоидальной функцией

$$Y = Y_0 + a / \{1 + \exp(-(x - x_0)/b)\}, \quad (2)$$

где Y – ППК_М или ППК, x – $T_{\text{ОСМ}}$, или $T_{>\text{МПКМ}}$, или lg (ПФК/МПК), или ПОМПК_М, Y_0 – минимальное значение ППК_М или ППК, a – максимальное значение ППК_М или ППК, x_0 – значение x , соответствующее $a/2$, и b – параметр уравнения, отражающий степень сигмоидности.

За пороговое «антимутантное» значение фармакокинетико-фармакодинамического параметра принимали значение, соответствующее значению ППК_M , равному $30 (\text{lg КОЕ/мл}) \times \text{ч}$ (Strukova et al., 2016b).

Глава 3. Фармакодинамика линезолида в отношении устойчивых и чувствительных к нему клеток *Staphylococcus aureus*

Лабораторная селекция устойчивых мутантов *S. aureus*.

Устойчивые к линезолиду мутанты каждого штамма с целевым значением МПК линезолида (8 мкг/мл) (Firsov et al., 2015b) были отобраны после 7-го (*S. aureus* 479, PM7), 9-го (*S. aureus* 2061, PM9), 23-го (*S. aureus* ATCC 700699, PM23) и 28-го (*S. aureus* 688, PM28) пассажа. По результатам анализа нуклеотидных последовательностей участка V домена гена 23S рРНК лабораторные мутанты *S. aureus* 479 (PM7) и *S. aureus* ATCC 700699 (PM23) содержали нуклеотидную замену G2576T (нумерация по *E. coli*) в одной из копий гена 23S рРНК. Данная хромосомная мутация часто встречается у выделенных в клинике устойчивых к линезолиду стафилококков.

Определение МПК и МПК_M линезолида.

Значение МПК линезолида составило 2 мкг/мл в отношении всех штаммов *S. aureus* (все штаммы – чувствительные). Значения МПК_M линезолида составляли 5 (*S. aureus* 479), 6 (*S. aureus* 688) и 10 мкг/мл (*S. aureus* 2061 и *S. aureus* ATCC 700699). Значения, полученные при использовании инокулята без РМ и с РМ совпадали. Все последующие исследования в динамической системе *in vitro* проводились со смешанным инокулятом.

Фармакодинамика линезолида в отношении устойчивых к нему клеток *S. aureus*.

С целью установления зависимости между численностью устойчивых к линезолиду клеток и режимом дозирования антибиотика моделировали его фармакокинетику в 32-кратном диапазоне значений ПФК (от 15 до 480 мкг×ч/мл, режимы Л15-Л480) в отношении штаммов с различными значениями МПК_M : *S. aureus* 479, *S. aureus* 688 и *S. aureus* ATCC 700699. Накопление устойчивых стафилококков происходило, когда концентрации антибиотика находились в пределах ОСМ в течение большей части интервала дозирования. Это можно проследить на примере трёх из моделируемых фармакокинетических профилей линезолида и соответствующих им кинетических кривых изменения численности клеток *S. aureus* ATCC 700699, устойчивых к $2 \times \text{МПК}$ антибиотика (Рисунок 2). Резистентность к линезолиду развивалась, когда его фармакокинетический профиль находился в пределах ОСМ (режим Л15; $T_{\text{ОСМ}} = 99\%$, $T_{>\text{МПК}_M} = 0\%$), и подавлялась, когда уровни концентрации антибиотика были ниже МПК (режим Л120; $T_{\text{ОСМ}} = 99\%$, $T_{>\text{МПК}_M} = 0\%$) или выше МПК_M (режим Л480; $T_{\text{ОСМ}} = 4\%$, $T_{>\text{МПК}_M} = 96\%$).

В условиях, способствующих селекции мутантов, устойчивых к $2 \times \text{МПК}$ линезолида, в популяции каждого штамма также шло накопление мутантов, устойчивых к $4 \times \text{МПК}$

линезолида (интенсивность их роста зависела от штамма), а в популяции *S. aureus* ATCC 700699 – также к $8 \times \text{МПК}$ линезолида.

При моделировании терапевтического режима Л240 наблюдали селекцию мутантов каждого штамма, наиболее интенсивную – у *S. aureus* ATCC 700699, причём были выявлены мутанты данного штамма с уровнем устойчивости выше $2 \times \text{МПК}$ линезолида.

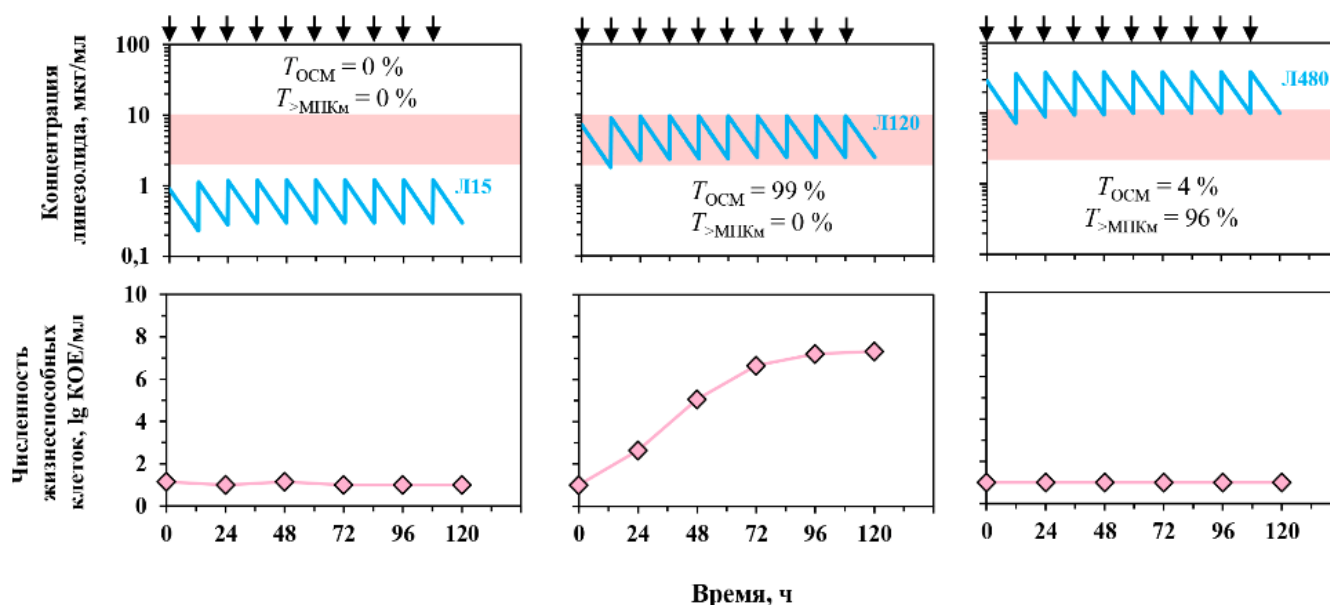


Рисунок 2. Моделируемые профили линезолида и кинетические кривые изменения численности мутантов *S. aureus* ATCC 700699, устойчивых к $2 \times \text{МПК}$ линезолида. Моменты введения линезолида обозначены стрелками. ОСМ обозначены закрашенными областями.

Поиск оптимального предиктора развития устойчивости *S. aureus* к линезолиду.

С целью установления зависимости «антимутантного» эффекта линезолида от фармакокинетико-фармакодинамических параметров были рассчитаны значения интегрального параметра ППК_М для каждой кинетической кривой, отражающей изменения численности устойчивых стафилококков во времени.

Минимальное расслоение индивидуальных кривых каждого штамма в системах координат ППК_М-ПФК/МПК и ППК_М-ПФК/МПК_М позволяет объединить данные и описать их уравнением Гаусса (Уравнение 1) с высокими коэффициентами корреляции ($r^2 = 0,89$ и $0,81$, соответственно) (Рисунок 3).

Пороговые значения параметров ПФК/МПК и ПФК/МПК_М составили 200 и 80 ч, соответственно. Зависимость «ППК_М – ПФК/МПК» была построена на основании данных, полученных для штаммов с одинаковым значением МПК (2 мкг/мл), и вопрос о её применимости для прогнозирования «антимутантного» эффекта линезолида в отношении штаммов стафилококка с другими значениями МПК линезолида остаётся открытым. В этой связи параметр ПФК/МПК_М следует считать предпочтительным для использования в качестве предиктора развития резистентности *S. aureus* к линезолиду.

При анализе зависимостей ППК_М-ПФК/МПК для индивидуальных штаммов *S. aureus*, нисходящей половине каждой кривой соответствовали значения $T_{>МПКМ} > 0$. Использование такого разделения при построении соответствующих графиков зависимости ППК_М от $T_{ОСМ}$ позволяет увидеть петлю гистерезиса: для верхней части кривой выполняется условие $T_{>МПКМ} = 0$, а для нижней – $T_{>МПКМ} > 0$. Гистерезис показан на примере штамма *S. aureus* ATCC 700699 на Рисунке 4.

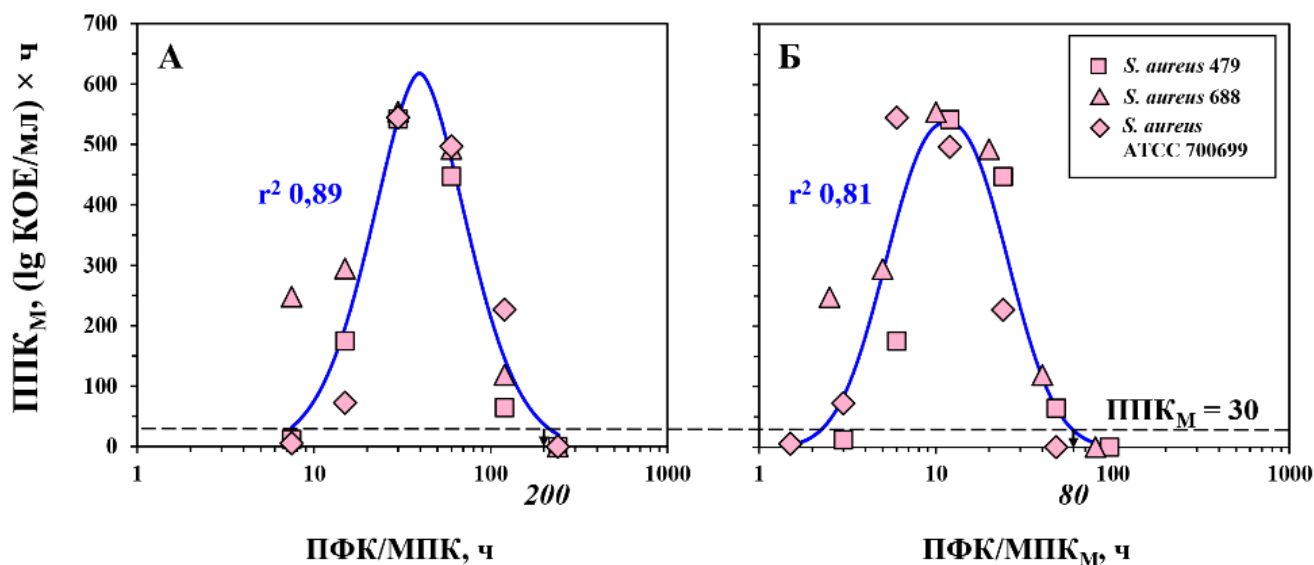


Рисунок 3. Зависимости ППК_М для мутантов *S. aureus*, устойчивых к 2×МПК линезолида (объединённые данные по трём штаммам), от ПФК/МПК и ПФК/МПК_М.

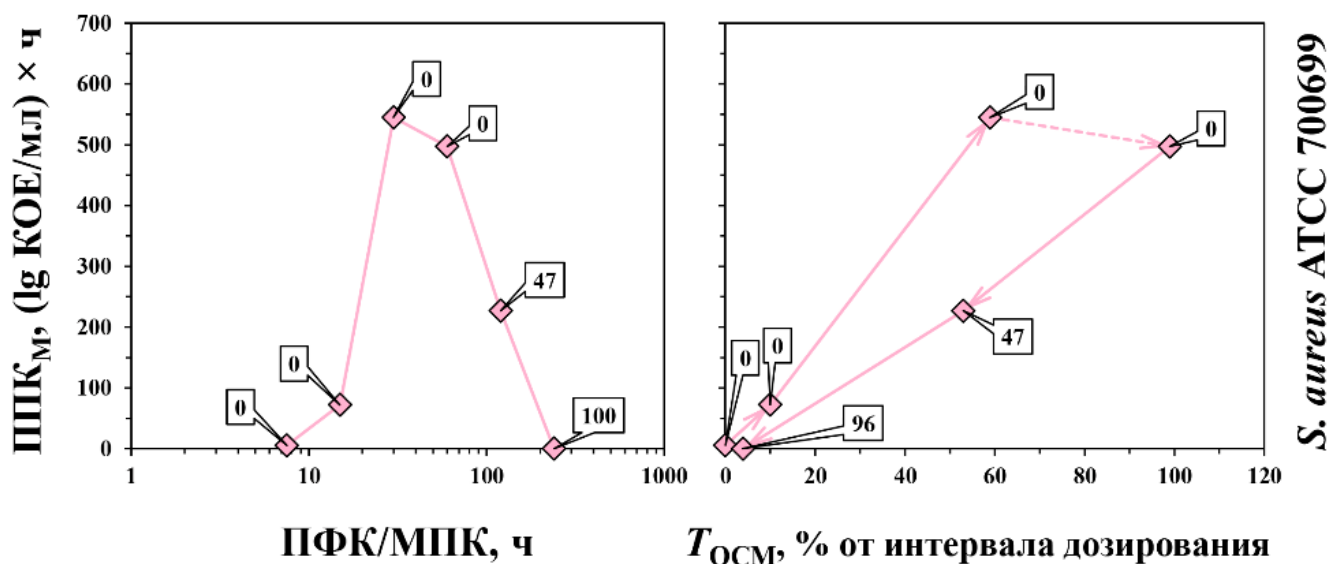


Рисунок 4. Зависимости ППК_М для мутантов *S. aureus* ATCC 700699, устойчивых к 2×МПК линезолида, от ПФК₂₄/МПК и $T_{ОСМ}$. Значения $T_{>МПКМ}$ указаны в выносках.

Зависимость величин ППК_М, относящихся к нижней кривой гистерезиса ($T_{>МПКМ} > 0$), от $T_{ОСМ}$ и зависимость ППК_М от $T_{>МПКМ}$ была описана сигмоидной функцией с $r^2 = 0,91$ (Уравнение 2) (Рисунок 5).

Поскольку одному и тому же значению $T_{\text{ОСМ}}$ могут соответствовать принципиально разные уровни устойчивости, предпочтительным для прогноза развития резистентности *S. aureus* к линезолиду представляется параметр $T_{>\text{МПК}_M}$.

Прогнозируемые пороговые «антимутантные» значения ПФК/МПК_М и $T_{>\text{МПК}_M}$ составили 80 ч и 100 % от интервала дозирования, соответственно. Такие значения могут быть достигнуты при применении линезолида в терапевтической дозе в том случае, если значение его МПК_М в отношении бактериального штамма не превышает 4 мкг/мл.

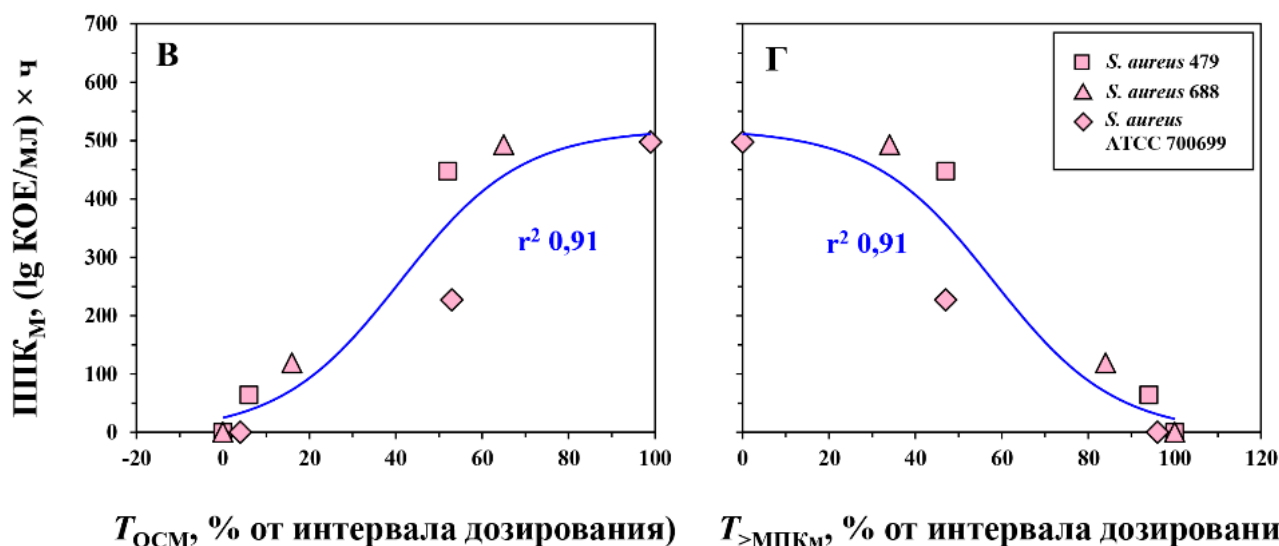


Рисунок 5. Зависимости МПК_М для мутантов *S. aureus*, устойчивых к 2×МПК линезолида (объединённые данные по трём штаммам), от $T_{\text{ОСМ}}$ и $T_{>\text{МПК}_M}$.

Результаты анализа связи между фармакокинетико-фармакодинамическими параметрами и резистентностью для мутантов *S. aureus*, резистентных к 4×МПК линезолида, соответствовали вышеописанным.

Фармакодинамика линезолида в отношении общей популяции клеток *S. aureus*.

Антистафилококковый эффект линезолида зависел от режима его дозирования и был качественно схожим в отношении всех изученных штаммов. Эффект отсутствовал при режимах Л15-Л60 и был умеренным при режимах Л120-Л480, усиливаясь по мере увеличения моделируемого значения ПФК. Между значениями МПК (объединённые данные по трём штаммам) и ПФК/МПК была установлена зависимость, описываемая сигмоидной функцией (Уравнение 2) с $r^2 = 0,82$.

Глава 4. Фармакодинамика линезолида в комбинации с даптомицином в отношении устойчивых и чувствительных клеток *Staphylococcus aureus*

С целью оценки возможности преодоления устойчивости *S. aureus* к линезолиду под воздействием его комбинации с даптомицином проведены фармакодинамические исследования со штаммами *S. aureus* ATCC 700699 и *S. aureus* 2061, которые характеризовались значением МПК_М линезолида, равным 10 мкг/мл.

Определение МПК_М и МПК линезолида и даптомицина.

Значение МПК_М линезолида составило 10 мкг/мл в отношении обоих штаммов, даптомицина – 10 и 14 мкг/мл в отношении *S. aureus* 2061 и *S. aureus* ATCC 700699, соответственно. Под действием даптомицина значения МПК_М линезолида в отношении штаммов *S. aureus* ATCC 700699 и *S. aureus* 2061 снизились в 3,3 и 2,5 раза (с 10 до 3 и 4 мкг/мл, соответственно). Под влиянием линезолида произошло 2,3- и 1,25-кратное снижение МПК_М даптомицина в отношении штаммов *S. aureus* ATCC 700699 и *S. aureus* 2061 (с 14 и 10 до 6 и 8 мкг/мл, соответственно).

Под влиянием даптомицина значения МПК линезолида в отношении штаммов *S. aureus* 2061 и ATCC 700699 снижались в 16 раз (с 2 до 0,125 мкг/мл), а под влиянием линезолида величина МПК даптомицина в отношении штамма *S. aureus* ATCC 700699 снизилась в 2 раза (с 0,5 до 0,25 мкг/мл) и не изменилась в отношении штамма *S. aureus* 2061 (0,25 мкг/мл).

Фармакодинамика комбинации линезолида с даптомицином в отношении устойчивой субпопуляции *S. aureus*.

Для оценки «антимутантного» эффекта в отношении обоих штаммов *S. aureus* моделировали фармакокинетические профили линезолида и даптомицина отдельно и в комбинации при их соотношении 1:2. Моделировали режимы дозирования линезолида, даптомицина и их комбинации при соответствующих терапевтическим (Л240, Д480 и Л240+Д480, соответственно) и субтерапевтическим значениях ПФК (Л120, Д240 и Л120+Д240, соответственно). Линезолид вводили каждые 12 ч, даптомицин – каждые 24 ч на протяжении 5 дней. Сочетанное применение антибиотиков подавляло рост мутантов, устойчивых к каждому из них, что можно увидеть на примере штамма *S. aureus* ATCC 700699 при режимах Л240, Д480 и Л240+Д480, (Рисунок 6). Подавление развитие резистентности было связано с увеличением продолжительности пребывания профиля антибиотика выше уровня МПК_М, что стало следствием снижения значений МПК_М препаратов в отношении *S. aureus* под влиянием друг друга.

Сопоставление значений параметра ППК_М для линезолида (ППК_{М(Л)}) и даптомицина (ППК_{М(Д)}) с соответствующими значениями $T_{>МПКМ}$ подтвердило наличие зависимости: меньшим значениям площадей (менее выраженное развитие резистентности) преимущественно соответствовали бóльшие значения $T_{>МПКМ}$. Также значения ППК_{М(Л)} и ППК_{М(Д)} сопоставляли с новым интегральным параметром ПОМПК_М: их снижение согласовывалось с увеличением соответствующих значений ПОМПК_М.

С целью оценки надёжности параметров $T_{>МПКМ}$ и ПОМПК_М как штаммонезависимых предикторов «антимутантного» эффекта их значения были сопоставлены с величиной ППК_{М(Л)} или ППК_{М(Д)} для *S. aureus* ATCC 700699 и *S. aureus* 2061 при использовании антибиотиков отдельно и в комбинации. Расположение точек на графике зависимости

ППК_{М(Л)} или ППК_{М(Д)} от $T_{>МПКМ}$ позволяет описать ее сигмоидной функцией (Уравнение 2) с r^2 0,97 или 0,78, соответственно. Та же функция описывает зависимость ППК_{М(Л)} или ППК_{М(Д)} от ПОМПК_М (r^2 0,95 или 0,73, соответственно). На основании зависимости ППК_{М(Л)} или ППК_{М(Д)} от $T_{>МПКМ}$ и ПОМПК_М можно прогнозировать «антимутантные» значения $T_{>МПКМ}$ и ПОМПК_М. Они составили, соответственно, 60% от интервала дозирования линезолида и даптомицина и 80 мкг×ч/мл.

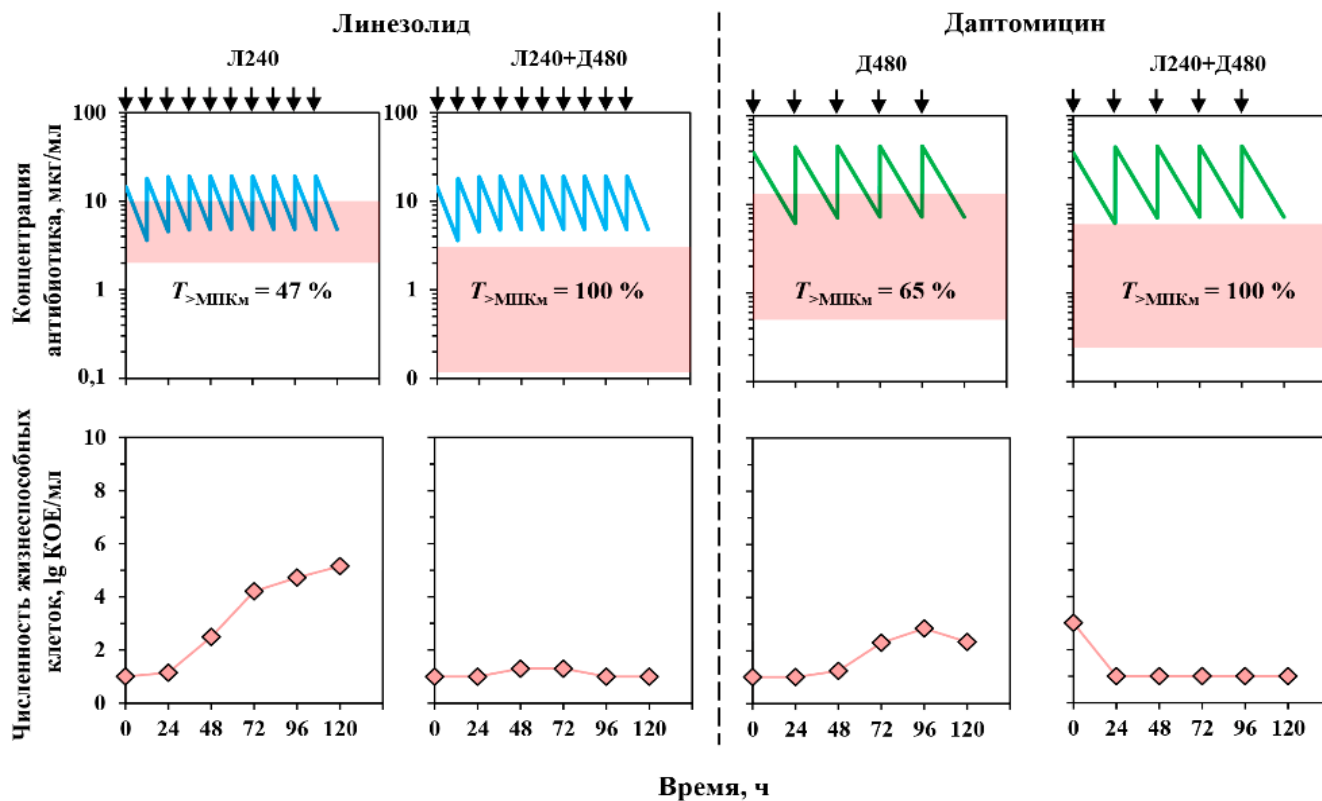


Рисунок 6. Моделируемые профили линезолида и даптомицина и кинетические кривые изменения численности мутантов *S. aureus* ATCC 700699, устойчивых $2 \times$ МПК соответствующего антибиотика, при применении их в отдельности и в комбинации при терапевтически реализуемых значениях ПФК. ОСМ обозначены закрашенными областями.

Фармакодинамика линезолида, даптомицина и их комбинации в отношении общей популяции *S. aureus*.

Эффект комбинации в отношении *S. aureus* ATCC 700699 и *S. aureus* 2061 при обоих моделируемых режимах дозирования был выше эффекта линезолида. Эффект комбинации линезолида с даптомицином в отношении обоих штаммов *S. aureus* при режимах Л240+Д480 и Л120+Д240 на протяжении всего периода наблюдения был схожим с эффектом липопептида в отдельности при режимах Д240 и Д480, соответственно. По-видимому, эти различия обусловлены значительно бóльшим снижением МПК линезолида под влиянием даптомицина (16-кратные различия) по сравнению с минимальным снижением МПК даптомицина под влиянием линезолида (2-кратное различие для *S. aureus* ATCC 700699 при отсутствии различий в МПК для *S. aureus* 2061).

Глава 5. Обсуждение результатов

Антимикробный эффект линезолида в отношении общей популяции трёх изученных штаммов *S. aureus* был качественно схожим и зависел от режима дозирования препарата. Между ППК (объединённые данные по всем штаммам) и ПФК/МПК была установлена зависимость, описываемая сигмоидной функцией ($r^2 = 0,82$). Сигмоидные зависимости между параметром, отражающим антибактериальный эффект, и ПФК/МПК прежде были установлены для многих пар антибиотик-бактерия (Firsov et al., 1997, 2000a, 2001, 2002a, 2002b, 2003, 2006, 2013; MacGowan et al., 2000, 2001; Klepser et al., 2001; Lubenko et al., 2008; Strukova et al., 2009; 2016a, 2016b).

Настоящая работа стала логическим продолжением исследования, посвящённого изучению закономерностей развития резистентности *S. aureus* к линезолиду (Струкова, 2010; Firsov et al., 2015b). В предыдущем исследовании был разработан метод искусственного обогащения бактериальной популяции стафилококка устойчивыми клетками, который позволил изучить развитие резистентности к линезолиду у штаммов *S. aureus* (Firsov et al., 2015b, 2017; Zinner et al., 2018), в том числе при его сочетанном применении с рифампицином (Firsov et al., 2017) и гентамицином (Zinner et al., 2018). Данный метод успешно применили и в настоящем исследовании.

По сравнению с упомянутой работой (Струкова, 2010; Firsov et al., 2015b), в настоящем исследовании моделировали значительно более широкий диапазон значений ПФК линезолида. В результате нам удалось установить куполообразные зависимости между развитием резистентности *S. aureus* и параметрами ПФК/МПК или ПФК/МПК_М с высокими коэффициентами корреляции. Подобные куполообразные кривые зависимости «резистентность – концентрация», подтверждающие справедливость гипотезы ОСМ, ранее были получены для антибиотиков других классов: фторхинолонов (Firsov et al., 2003, 2013, 2014, 2015a; Zinner et al., 2003, 2013; Croisier et al., 2004; Tam et al., 2007; Gebru et al., 2011; Strukova et al., 2015, 2016b), гликопептидов (Firsov et al., 2006; Zhu et al., 2012), липопептидов (Firsov et al., 2006) и бета-лактамов (Stearne et al., 2007). Примечательно, что диапазон значений ПФК/МПК для *S. aureus* и линезолида, который соответствовал наиболее интенсивному обогащению популяции бактерий мутантами (30-60 ч), оказался схожим с таковыми для *S. aureus* в случае ванкомицина, даптомицина (20-60 ч) (Firsov et al., 2006) и фторхинолонов (24-62 ч) (Firsov et al., 2003).

При анализе зависимости ППК_М от $T_{\text{ОСМ}}$ отмечался гистерезис, связанный и гетерогенностью ОСМ (Firsov et al., 2008a). Между ППК_М и параметром $T_{\text{ОСМ}}$ при $T_{>\text{МПК}_\text{М}} = 0$ или $T_{>\text{МПК}_\text{М}}$ были установлены сигмоидные зависимости с высокими коэффициентами корреляции.

Параметры ПФК/МПК_М и $T_{>\text{МПК}_\text{М}}$ были признаны наиболее надёжными для прогнозирования селекции устойчивых к линезолиду мутантов *S. aureus*. Прогнозируемое

пороговое «антимутантное» значение ПФК/МПК_М и $T_{>МПКМ}$ в отношении стафилококка составило, соответственно, 80 мкг×ч/мл и 100% от интервала дозирования линезолида. Спрогнозированное на основе каждого из параметров пороговое значение МПК_М линезолида (для терапевтической дозы 600 мг каждые 12 ч) составило 4 мкг/мл.

Если штамм стафилококка, вызвавший заболевание, характеризуется значением МПК_М линезолида выше порогового, то вероятно развитие резистентности этого штамма к линезолиду в процессе терапии. Значения МПК_М изученных в фармакодинамических экспериментах штаммов *S. aureus* 479, 688 и АТСС 700699, равные 5, 6 и 10 мкг/мл, соответственно, оказались выше данного критического значения. Наибольшую «опасность» с точки зрения развития резистентности представляет штамм *S. aureus* АТСС 700699 характеризующийся значением МПК_М в 2 раза выше порогового. В отношении данного штамма, а также изолята *S. aureus* 2061 с таким же значением МПК_М линезолида, была изучена перспективность применения линезолида в комбинации с даптомицином.

В настоящей работе применяли фармакокинетически-обоснованный подход к прогнозированию развития резистентности бактерий на фоне применения комбинированной антибиотикотерапии: оценку значений МПК_М антибиотиков, применяемых в комбинации, проводили при соотношении концентраций препаратов, соответствующем соотношению значений ПФК антибиотиков, моделируемых в фармакодинамических экспериментах (Firsov et al., 2017; Zinner et al., 2018; Golikova et al., 2019). Под действием линезолида или даптомицина в отдельности при моделировании как субтерапевтических, так и терапевтических значений ПФК, популяция каждого штамма *S. aureus* обогащалась мутантами, устойчивыми к соответствующему антибиотику. При применении антибиотиков в комбинации, рост клеток стафилококка, устойчивых к линезолиду или даптомицину, подавлялся полностью или частично, соответственно. Усиление «антимутантного» эффекта антибиотиков, используемых в комбинации, было связано со снижением значений их МПК_М в присутствии друг друга.

В настоящей работе было показано соответствие между снижением значений МПК_М антибиотиков под влиянием друг друга, повышением значений $T_{>МПКМ}$ или ПОМПК_М препаратов при их применении в комбинации и возрастанием «антимутантного» эффекта в отношении *S. aureus*. Как показал регрессионный анализ, параметры $T_{>МПКМ}$ и ПОМПК_М являются надёжными предикторами «антимутантного» эффекта комбинации линезолида с даптомицином в отношении *S. aureus*: была установлена сигмоидная зависимость между параметрами $T_{>МПКМ}$ или ПОМПК_М и ППК_{М(Л)}. Ранее возможность использования $T_{>МПКМ}$ для прогнозирования развития резистентности золотистого стафилококка была установлена для комбинаций линезолид-рифампицин (Firsov et al., 2017) и линезолид-гентамицин (Zinner et al., 2018), ПОМПК_М – для комбинации даптомицин-рифампицин (Golikova et al., 2019).

Было отмечено усиление антистафилококкового эффекта комбинации по сравнению с линезолидом, но не с даптомицином. Схожие результаты были получены в нескольких работах, посвященных изучению эффекта данной комбинации в динамических системах *in vitro* (Luther, LaPlante, 2015; Jørgensen et al., 2016). Предположительно, различия между эффектом каждого из препаратов в отдельности и в комбинации связаны со снижением значений МПК антибиотиков в присутствии друг друга. Похожая связь прослеживается для других комбинаций с линезолидом или даптомицином и *S. aureus* (Firsov et al., 2017; Zinner et al., 2018; Golikova et al., 2019, 2020). Комбинация линезолид-даптомицин может представлять интерес для терапии стафилококковых инфекций благодаря её потенциальному «антимутантному» действию: возможность предотвратить или, по крайней мере, отсрочить развитие резистентности бактерий при проведении антимикробной терапии двумя препаратами повышает шанс успешного лечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящая работа стала продолжением серии исследований, проводимых ранее в динамических системах *in vitro* с антибиотиками разных групп. По результатам настоящего исследования была подтверждена применимость гипотезы ОСМ к линезолиду при его действии на штаммы *Staphylococcus aureus*. Между резистентностью *S. aureus* к линезолиду и фармакокинетико-фармакодинамическими параметрами, отражающими его концентрацию, были установлены зависимости, описываемые функцией Гаусса или сигмоидной функцией.

До сих пор установить применимость гипотезы ОСМ и получить аналогичные зависимости удалось применительно к антибиотикам групп фторхинолонов, липо- и гликопептидов, цефалоспоринов. Результаты настоящего исследования позволяют предполагать, что развитие резистентности бактерий к антибиотикам разных классов происходит по одним и тем же законам. Установленные зависимости между резистентностью *S. aureus* к линезолиду и фармакокинетико-фармакодинамическими параметрами стали основанием для выбора оптимальных предикторов антибиотикорезистентности.

Согласно полученным результатам, режим дозирования линезолида, применяемый для терапии инфекционных заболеваний, не гарантирует предотвращения развития к нему резистентности *S. aureus*. Мы установили, что сочетанное применение линезолида и даптомицина позволяет предотвратить развитие резистентности *S. aureus* как к линезолиду, так и к даптомицину, и обеспечивает антистафилококковый эффект, сравнимый с эффектом даптомицина в отдельности. На основании полученных результатов можно сделать заключение о перспективности применения данной комбинации антибиотиков в клинике для терапии стафилококковых инфекций с целью снизить риск развития устойчивости данного возбудителя к линезолиду и даптомицину.

ВЫВОДЫ

1. Подтверждена применимость гипотезы существования «окна селекции мутантов» к паре «линезолид – *S. aureus*»: интенсивность селекции устойчивых к линезолиду мутантов золотистого стафилококка зависит от положения фармакокинетического профиля антибиотика относительно «окна селекции мутантов».
2. Установлены зависимости между развитием резистентности *S. aureus* к линезолиду и его концентрацией, выраженной при помощи фармакокинетико-фармакодинамических параметров. Согласно полученным результатам, наиболее надёжными для прогнозирования эффекта линезолида в отношении резистентных мутантов *S. aureus* признаны параметры ПФК/МПК_М и $T_{>МПКМ}$. Рассчитанное на основе этих параметров пороговое значение МПК_М может быть использовано для оценки риска развития резистентности золотистого стафилококка к линезолиду.
3. Показано, что линезолид при его применении в дозе, соответствующей терапевтической, не гарантирует полного подавления селекции устойчивых мутантов *S. aureus*, что позволяет сделать вывод о целесообразности применения линезолида в комбинации с другими антибиотиками.
4. Показано, что сочетанное применение линезолида и даптомицина при моделировании режимов их дозирования, соответствующих клиническим, характеризуется «антимутантным» эффектом в отношении золотистого стафилококка. Отмечен сходный антистафилококковый эффект комбинации линезолида и даптомицина и более эффективного антибиотика из сочетаемых – даптомицина.
5. Показана применимость параметров $T_{>МПКМ}$ и ПОМПК_М для прогнозирования вероятности развития резистентности *S. aureus* к линезолиду и даптомицину при их использовании в комбинации.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи:

1. Firsov A. A., Alieva K. N., Strukova E. N., Golikova M. V., Portnoy Y. A., Dovzhenko S. A., Kobrin M. B., Romanov A V., Edelstein M V., Zinner S. H. Testing the mutant selection window hypothesis with *Staphylococcus aureus* exposed to linezolid in an *in vitro* dynamic model // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. – 2017. – Vol. 72. – № 11. – P. 3100-3107.
2. Alieva K. N., Strukova E. N., Golikova M. V., Portnoy Y. A., Zinner S. H., Firsov A. A. Time inside the mutant selection window as a predictor of staphylococcal resistance to linezolid // The Journal of antibiotics. – 2018. – Vol. 71. – № 5. – P. 514-521.
3. Zinner S. H., Alieva K. N., Strukova E. N., Golikova M. V., Portnoy Y. A., Firsov A. A. Anti-mutant efficacy of antibiotic combinations: in vitro model studies with linezolid and daptomycin // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. – 2021.

4. **Алиева К. Н.**, Струкова Е. Н., Голикова М. В., Портной Ю. А., Фирсов А. А. Зависимая от концентрации антибиотика селекция линезолидоустойчивых стафилококков в динамической системе *in vitro* // Антибиотики и химиотерапия. – 2016. – Т. 61. – № 9-10. – С. 28-32.

5. **Алиева К. Н.**, Фирсов А. А. Новое в фармакодинамике противобактериальных средств на 28-м конгрессе ECCMID // Эффективная фармакотерапия. – 2019. – Т. 15. – № 1. – С. 16-21.

6. **Алиева К. Н.**, Голикова М. В., Портной Ю. А., Фирсов А. А. Комбинированная терапия как путь к предотвращению антибиотикорезистентности бактерий: линезолид—даптомицин против *Staphylococcus aureus* // Антибиотики и химиотерапия. – 2019. – Т. 64. – № 9-10. – С. 8-13.

Тезисы докладов и публикации материалов конференций:

1. **Алиева К. Н.** Комбинированная антибиотикотерапия как подход к преодолению устойчивости *Staphylococcus aureus*: противомутантная эффективность комбинации линезолида с даптомицином в динамической системе *in vitro* // Тезисы докладов научно-практической конференции молодых учёных «Актуальные вопросы эпидемиологии, диагностики, лечения и профилактики инфекционных и онкологических заболеваний». – Москва, 2018. С. 4-5.

2. **Алиева К. Н.** Преодоление устойчивости *Staphylococcus aureus* под воздействием комбинации линезолида с даптомицином в динамической системе *in vitro* // Вакцинология как ответ биологическим угрозам. Сборник тезисов молодых ученых в рамках научной конференции с международным участием. – Москва, 2019. – С. 19.

3. **Alieva K. N.**, Golikova M. V., Strukova E. N., Portnoy Y. A., Zinner S. H., Firsov A. A. MPC-based prediction of anti-mutant effects of linezolid/daptomycin combinations against *Staphylococcus aureus*: a study in an *in vitro* dynamic model // 30th ECCMID Abstract book, 2020. – P. 1586.

4. **Alieva K. N.**, Golikova M. V., Strukova E. N., Portnoy Y. A., Zinner S. H., Firsov A. A. Linezolid-daptomycin combinations against total and resistant *Staphylococcus aureus* populations: *in vitro* model studies // FEMS Online Conference on Microbiology Abstract Book 2020. – P. 108.