

# Эфирные масла лекарственных растений в коррекции микробиоценоза верхних дыхательных путей у детей с риносинуситом

О.Е.Челпаченко<sup>1</sup>, Е.И.Данилова<sup>2</sup>, И.Н.Чайникова<sup>1,2</sup>, Е.В.Иванова<sup>1,2</sup>, Н.Б.Перунова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения РАН, Оренбург, Российская Федерация;

<sup>2</sup>Оренбургский государственный медицинский университет, Оренбург, Российская Федерация

Работа носит обзорный характер и включает результаты собственных исследований авторов, направленных на обоснование использования паров «Масла Дыши» для лечения риносинусита (РС) у детей. Анализ литературных источников свидетельствует о высокой распространенности острого РС и, что особенно важно, – его перехода в хроническое течение. Накоплены данные, раскрывающие особенности микробиоценоза слизистой верхних дыхательных путей (ВДП) в норме и при РС. Обозначена роль дисбиоза микрофлоры ВДП в качестве центрального патогенетического звена РС. Установлено, что условно-патогенные микроорганизмы (УПМ), заселяющие слизистую ВДП, в условиях дисбиоза обладают рядом биологических свойств, позволяющих им длительно персистировать на слизистой. Особое значение принадлежит таким универсальным свойствам УПМ, как биопленкообразование (БПО) и антилизозимная активность (АЛА), что затрудняет проведение эффективной антимикробной терапии РС, способствует формированию хронического риносинусита. Данные обстоятельства диктуют необходимость поиска альтернативных методов лечения РС, а именно – применения эфирных масел (ЭМ) лекарственных растений. Проведенные нами исследования выявили способность паров «Масла Дыши» подавлять персистентный потенциал этиологически значимых УПМ в виде ингибирования БПО и АЛА на популяционном уровне. Полученные данные расширяют представления о механизмах антимикробного действия паров ЭМ и свидетельствуют о целесообразности применения «Масла Дыши» для лечения и профилактики острого и хронического РС у детей.

*Ключевые слова:* эфирные масла, микробиоценоз ВДП, риносинусит, лечение, дети

**Для цитирования:** Челпаченко О.Е., Данилова Е.И., Чайникова И.Н., Иванова Е.В., Перунова Н.Б. Эфирные масла лекарственных растений в коррекции микробиоценоза верхних дыхательных путей у детей с риносинуситом. Вопросы практической педиатрии. 2021; 16(6): ??–??. DOI: 10.20953/1817-7646-2021-6-??-??

## Essential oils of medicinal plants for the correction of upper respiratory tract microbiota in children with rhinosinusitis

О.Е.Chelpachenko<sup>1</sup>, E.I.Danilova<sup>2</sup>, I.N.Chainikova<sup>1,2</sup>, E.V.Ivanova<sup>1,2</sup>, N.B.Perunova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of RAS, Orenburg, Russian Federation;

<sup>2</sup>Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation

In this review, we analyzed the results of our studies aimed to provide a rationale for the use of 'Dyshi' oil for the treatment of rhinosinusitis in children. Literature data suggests high incidence of rhinosinusitis and, importantly, its frequent transition into chronic disease. The microbiota of the upper respiratory tract (URT) mucosa in healthy individuals and rhinosinusitis patients has been extensively investigated. Dysbiosis of the URT is known to have a crucial role in the pathogenesis of rhinosinusitis. It was found that opportunistic microorganisms inhabiting the URT have a number of biological properties that allow them to persist on the mucosa for a long time in case of dysbiosis. Particular attention should be paid to their abilities to form biofilms and to inactivate lysozyme, which hinders effective antimicrobial therapy of rhinosinusitis and triggers the development of chronic rhinosinusitis. This necessitates the search for alternative treatments, for example essential oils of medicinal plants. We found that 'Dyshi' oil can decrease the persistence potential of etiologically significant opportunistic microorganisms by inhibiting biofilm formation and suppressing lysozyme-inactivating activity at the population level. Our findings contribute to a better understanding of the mechanisms underlying antimicrobial activity of essential oils and demonstrate the efficacy of 'Dyshi' oil for the treatment and prevention of acute and chronic rhinosinusitis in children.

*Key words:* essential oils, microbiota of the upper respiratory tract, rhinosinusitis, treatment, children.

**For citation:** Chelpachenko O.E., Danilova E.I., Chainikova I.N., Ivanova E.V., Perunova N.B. Essential oils of medicinal plants for the correction of upper respiratory tract microbiota in children with rhinosinusitis. Vopr. prakt. pediatr. (Clinical Practice in Pediatrics). 2021; 16(6): ??–??. (In Russian). DOI: 10.20953/1817-7646-2021-6-??-??

### Для корреспонденции:

Данилова Елена Ивановна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры педиатрии Института последипломного образования, Оренбургский государственный медицинский университет

Адрес: 460000, Оренбург, ул. Советская, 6

Телефон: (961) 912-2766

E-mail: danilowa@list.ru

Статья поступила 07.11.2021 г., принята к печати 27.12.2021 г.

### For correspondence:

Elena I. Danilova, MD, PhD, Associate Professor, Department of Pediatrics, Institute of Postgraduate Education, Orenburg State Medical University

Address: 6 Sovetskaya str., Orenburg, 6460000, Russian Federation

Phone: (961) 912-2766

E-mail: danilowa@list.ru

The article was received 07.11.2021, accepted for publication 27.12.2021

**Р**аспространенность риносинусита (РС) высока и составляет 6–15% в разных странах мира. В России за последние годы частота поражений носа и околоносовых пазух у детей регистрировалась в 28–30% случаев всех заболеваний верхнего отдела дыхательных путей (ВДП) [1, 2], причем особую озабоченность для врачей первичного звена здравоохранения вызывает факт высокой склонности РС к хронизации. Так, у 50% часто и длительно болеющих детей данная патология сохраняется и во взрослом периоде. Ежегодно число больных с воспалением околоносовых пазух увеличивается в среднем на 1,5–2% [3]. Согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения, РС может быть фактором риска для пациентов с COVID-19, что отражает не только медико-биологическую, но и социально-экономическую значимость данной проблемы [4]. Хронический риносинусит (ХРС) является одним из наиболее распространенных заболеваний во всем мире, поражающим все возрастные группы [5–7].

Этиология ХРС многофакторна. Патогенез воспалительных заболеваний носа связан с особенностями анатомического строения (относительно малые размеры пазух, узость носовых ходов у детей), наследственностью и влиянием окружающей среды. К местным факторам относятся анатомические аномалии носа и придаточных пазух, ятрогенные состояния (послеоперационные рубцы), новообразования или наличие инородного тела. Факторы окружающей среды, способствующие развитию ХРС, включают вредное воздействие загрязнителей, в том числе курение, аллергию, а также наличие микробного фактора: вирусной, бактериальной и грибковой инфекции. Наиболее частыми возбудителями бактериального воспаления в околоносовых пазухах у детей являются *Staphylococcus aureus* (особенно в младшей возрастной группе), *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Hemophilus influenzae*, реже – анаэробная микрофлора [1]. В последнее время отмечается рост грибковых синуситов, в этиологии которых наибольшее значение отводится дрожжеподобным грибам рода *Candida* и *Aspergillus* [1].

В то же время накопились многочисленные клинико-микробиологические данные, свидетельствующие о роли нормальной микрофлоры в развитии инфекционно-воспалительных и соматических заболеваний различной локализации. Установлено, что микробиота носа имеет ключевое значение в координации защитной функции иммунной системы, ассоциированной со слизистой ВДП. Нарушения состава микробиоты оказывают значительное влияние на возникновение и развитие воспалительных заболеваний ВДП. Считается, что и развитие ХРС связано с изменением микробиоты, в частности, с наличием дисбиоза в полости носа и других отделах ВДП, что сопровождается нарушением иммунорегуляторной и защитной функции микробиоты слизистой оболочки носа [8].

Здоровье человека в настоящее время рассматривается как результат сложного взаимодействия между микробиомом и его хозяином-человеком [9]. Дыхательные пути человека простираются от носовой полости до альвеол легких и населены нишевыми сообществами микроорганизмов. Микробиота респираторного тракта действует как привратник, который обеспечивает колонизационную резистент-

ность дыхательных путей в отношении патогенных микроорганизмов и участвует в формировании, и поддержании гомеостаза дыхательной системы [10]. Слизистая дыхательных путей заселена специфичными для данной экологической ниши бактериальными сообществами, причем наибольшая плотность бактерий наблюдается в ВДП. На протяжении многих лет накапливались доказательства роли бактериальных сообществ ВДП в предотвращении проникновения респираторных патогенов на поверхность слизистой оболочки и распространения их на нижних дыхательных путях [11]. Кроме того, микробиота респираторного тракта играет важную роль в структурном созревании дыхательного тракта [12] и формировании местного (мукозального) иммунитета [13, 14]. Следовательно, микробиом ВДП, аналогично микробиому кишечника, является важным фактором, определяющим здоровье органов дыхания. Микробиота дыхательных путей рассматривается как ключ к здоровью органов дыхания. Обращает на себя внимание, что воспаление при рецидивирующих заболеваниях респираторного тракта активно поддерживается дисбиотическими нарушениями на его слизистых оболочках, и обозначается это состояние как *Dysbiosis – Inflammation Cycle* [15]. При этом дисбиоз поддерживает воспаление, а воспаление – дисбиоз, что в итоге выражается в пролонгации локального воспаления. Соответственно, длительное воспаление на слизистой оболочке ВДП и в миндалинах лимфоидного глоточного кольца клинически будет проявляться рецидивирующим ринитом, РС и другими заболеваниями респираторного тракта [16].

Заселение слизистой оболочки респираторного тракта микроорганизмами начинается в период внутриутробного развития человека [17, 18] и оказывает влияние на формирование локального иммунного статуса в постнатальном периоде [19, 20]. Процесс формирования нормальной микрофлоры респираторного тракта начинается уже через 1 неделю после рождения [21] и продолжается в течение первых нескольких лет жизни [22, 23]. В течение первой недели жизни идет заселение ВДП *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Dolosigranulum* spp. и *Moraxella* spp. [21]. Установлено, что преимущественный рост *Corynebacterium* spp. и *Dolosigranulum* spp. преобладает в течение первых 3 мес. жизни, а *Moraxella* spp. – в возрасте 4–6 мес., способствуя поддержанию нормального гомеостаза дыхательных путей [24, 23]. «Ключевыми видами» в микробиоте ВДП являются *Dolosigranulum* spp. и *Corynebacterium* spp., поскольку они предотвращают заселение слизистой оболочки респираторного тракта потенциальными патогенами, в частности *S. pneumoniae* [24–28], которые могут колонизировать нижние дыхательные пути и способствовать развитию инфекционного процесса [29].

Количественные и качественные характеристики микробиоты респираторного тракта динамичны и подвержены влиянию многочисленных факторов организма-хозяина и окружающей среды [22–31]. К таким факторам относятся: вид родоразрешения, тип вскармливания [21, 24]; назначение антибиотиков [32]; время года; вакцинация; контакт с окружающими людьми и предшествующие инфекции. В то же время генетические факторы оказывают на микробиоту ВДП незначительное влияние [33, 34].

Колонизация респираторной системы нехарактерными для данной экологической ниши микроорганизмами в младенчестве является основным фактором, определяющим развитие патологии дыхательной системы в более позднем возрасте [25, 26].

Ряд исследований свидетельствуют о том, что острые инфекции ВДП связаны как со снижением разнообразия, так и с изменениями состава микробиоты респираторного тракта [36]. Дисбиоз данной экологической ниши способствует формированию микробно-воспалительных заболеваний, в том числе ХРС [37, 38]. Дисбиозы часто характеризуются потерей полезных, комменсальных бактерий, которые защищают слизистые от чрезмерного роста условно-патогенных бактерий. Таким образом, микробный дисбиоз считается важным биомаркером ХРС [39, 40].

Следовательно, изменения микробиоты играют важную роль в инициации заболеваний ВДП. [41]. В случае повторяющихся эпизодов синусита носовые пазухи имеют тенденцию к колонизации различными видами микроорганизмов. В то же время известно, что бактерии и грибы существуют в двух различных биологических формах: биопленочной и планктонной (свободноживущей). Чтобы выжить в суровых условиях окружающей среды, включая антибиотики, микроорганизмы образуют уникальную структуру, называемую биопленкой. Биопленка является предпочтительным состоянием, в котором существует 99% бактерий, и представляет собой упорядоченную группу микроорганизмов, живущих в матрице внеклеточного полимерного вещества, произведенного ими [42, 43]. Поэтому в настоящее время считается, что этиопатологическим фактором, играющим важную роль в развитии ХРС, является бактериальная биопленка [44]. Установлено, что у 76,7% пациентов с ХРС на микрофотографиях, полученных с использованием сканирующего электронного микроскопа, выявляются признаки микробных биопленок [45]. Прогрессирование ХРС часто индуцируется бактериальными инфекциями и/или изменением микробиома, а также образованием микробных биопленок [41].

Биопленки являются одним из важных факторов, способствующих переходу ОРС в хронический. Симптомы, связанные с биопленочными инфекциями, часто неясны. Лечение хронических, рецидивирующих инфекций, связанных с ростом биопленки, является сложной задачей даже для современных антибиотиков из-за 10–1000-кратной повышенной толерантности к ним. Биопленки могут повреждать и вызывать воспаление тканей и служить очагом распространения инфекции [46–48].

Сформированные на слизистой носа и пазух биопленки вызывают изменения мукоцилиарного покрова в виде разрушения эпителиального слоя и ресничек, а также местную воспалительную реакцию [49, 50]. Это говорит о том, что повреждение эпителия, ассоциированное с биопленкой, является частью патогенеза ХРС. Ассоциация биопленки с хронической инфекцией обусловлена, с одной стороны, способностью микроорганизмов противостоять воздействию антимикробных препаратов с формированием антибиотикорезистентных форм; с другой – уклонением бактерий и грибов в составе биопленки от врожденных, приобретенных гумо-

ральных и клеточных механизмов иммунной защиты организма человека. [51, 52]. Несмотря на то, что лейкоциты могут проникать в биопленки, они не способны фагоцитировать и убивать бактерии, так как фагоцитозу препятствует окружающая их матрица экзополисахаридов [53]. Бактерии в биопленках проявляют устойчивость к нейтрофильному киллингу [54]. Другим фактором, важным для персистенции (длительного выживания) бактерий в биопленке, является способность подавлять фагоцитоз, нейтрализуя активные формы кислорода (АФК), например под действием фермента каталазы [55]. Тем самым, уклонение микроорганизмов в составе биопленок от иммунных механизмов способствует их выживанию и распространению в организме, наряду с устойчивостью к антимикробным препаратам.

Сообщества биопленок, формируемых в организме, как правило, являются полимикробными [56]. В целом, чем больше микробное разнообразие в биопленке, тем прочнее биопленка с точки зрения ее живучести [57]. Золотистый стафилококк (*S. aureus*) был идентифицирован в 50% биопленок от пациентов с ХРС, при этом синегнойная палочка и гемофильная палочка – в 22 и 28% культур соответственно. Другие виды бактерий, такие как *Streptococcus viridans*, коагулазонегативные стафилококки, *Enterococcus faecalis*, также образуют биопленки у пациентов с ХРС. Достаточно часто биопленки образуют анаэробы, включая пропионибактерии и коринбактерии. Образование биопленки *S. aureus* коррелирует с осложненным течением заболевания у пациентов с ХРС, поскольку биопленочные бактерии защищены от лекарственных препаратов благодаря непроницаемости матрицы биопленки, состоящей из различных внеклеточных полимерных веществ [58].

Заболевания, вызываемые полимикробными биопленками, представляют собой серьезную проблему в клинических условиях из-за их повышенной вирулентности и устойчивости к антимикробным и противовоспалительным препаратам, что обуславливает поиск новых подходов к лечению грибково-бактериальных биопленочных инфекций [59].

Учитывая этиологическую роль грибов в развитии ХРС, необходимо отметить, что среди грибов, формирующих биопленки, важная роль отводится грибам рода *Candida* [60]. Биопленка грибов рода *Candida* характеризуется структурированной смесью дрожжевых, псевдогифальных и гифальных клеток, которые окружены внеклеточным матриксом, состоящим из белков, углеводов, липидов и нуклеиновых кислот. Матрица биопленки функционирует как защитный физический барьер от окружающей среды и обеспечивает структурную целостность биопленки, что имеет решающее значение для устойчивости зрелых биопленок к механическому разрушению [61]. В присутствии биопленки грибов рода *Candida* нейтрофилы теряют способность образовывать активные формы кислорода, что снижает их способность к фагоцитозу [62]. Кроме того, внеклеточный матрикс биопленок *Candida albicans* помогает блокировать высвобождение нейтрофильных внеклеточных ловушек (сетей), тем самым уменьшая нейтрофильно-опосредованный киллинг [63]. Все эти механизмы позволяют грибам в составе биопленок уклоняться от иммунных механизмов и быть резистентными к фунгицидным препаратам [64].

Условно-патогенные и патогенные микроорганизмы, попадающие на слизистую ВДП, обладают определенным набором биологических свойств, способствующих персистенции (длительному переживанию) в среде их обитания. Персистирование микроорганизмов обусловлено их способностью противостоять факторам системы врожденного иммунитета организма человека. К секреторным факторам персистенции относится свойство микроорганизмов специфически инактивировать лизоцим (антилизоцимная активность (АЛА)) – один из наиболее распространенных защитных субстратов хозяина. Этот признак встречается у большинства грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также дрожжеподобных грибов, доказана роль АЛА в качестве маркера персистенции. Многочисленные клинико-микробиологические исследования показали возможность использования персистентных свойств микроорганизмов (способность к биопленкообразованию (БПО), АЛА) в качестве биомишени для таргетного поиска – отбора лекарственных препаратов, пригодных для эффективной борьбы с персистирующими микроорганизмами. Данная мишень связана с патогенезом хронических персистирующих инфекций, в том числе ХРС. Доказано, что изменение персистентного потенциала микробов в сторону снижения уровня выраженности признаков способствует элиминации патогенов из биотопа ВДП. Напротив, их увеличение ведет к формированию хронических форм заболевания. В этой связи целесообразно проведение поиска лекарственных препаратов, способных регулировать персистенцию микроорганизмов [65].

Учитывая роль микробного фактора в развитии РС, до настоящего времени центральное место в лечении принадлежит антибактериальной терапии. Распространенность микроорганизмов, ассоциированных с биопленкой, и низкая эффективность современных антибиотиков требуют перехода к созданию нетоксичных и мощных антибактериальных агентов, нацеленных на сигнальные пути, регулирующие БПО, синтез матрикса, гены, связанные с биопленкой, подвижность микроорганизмов, адгезию, дисперсию биопленки и многое другое [66–68].

Появление устойчивости к противомикробным препаратам побудило исследователей изучить терапевтические альтернативы, одна из которых включает использование натуральных растительных продуктов, таких как эфирные масла (ЭМ). Лекарственные свойства растений привлекают внимание клиницистов и других специалистов из-за их низкой токсичности, фармакологической активности и экономической целесообразности.

ЭМ – это летучие вторичные метаболиты, полученные из растений, содержащие смеси летучих и концентрированных органических соединений, которые естественным образом образуются в растениях [69, 70].

Одним из подходов, способствующих повышению эффективности профилактических и лечебных мероприятий при воспалительных заболеваниях ВДП, является использование натуральных ЭМ лекарственных растений. К таким препаратам относится композиция из 6 натуральных растительных ЭМ (эвкалиптовое, мятное, каепутовое, гвоздичное, винтергриновое, можжевельное) и левоментола – препарат

«Масло Дыши» (АО «АКВИОН», Россия), который рекомендуется для профилактики и лечения воспалительных заболеваний ВДП [71, 72].

Масла, входящие в композицию «Масло Дыши», отличаются рядом свойств, обеспечивающих антибактериальную, антигрибковую, противовирусную активность. Комбинация различных ЭМ препятствует устойчивости бактерий к антибиотикам, например путем влияния на систему оттока мембранных белков, стабилизации формы молекул и защиты антибиотиков от бактериальных ферментов [73, 74].

Важно отметить, что не только жидкие, но и летучие формы ЭМ проявляют антимикробную активность. Применение паров ЭМ обеспечивает высокую концентрацию активных соединений в очаге инфекции и ограничивает побочные эффекты, связанные с системным введением, в том числе токсичность, являющуюся результатом прямого контакта ЭМ со слизистой оболочкой ВДП [75].

Очевидно, что антимикробная и противовоспалительная эффективность комбинированного препарата обусловлена наличием соответствующих свойств у составляющих его компонентов. Так, можжевельное масло, входящее в состав препарата «Масло Дыши», представлено монотерпенами, такими как  $\alpha$ -пинен, лимонен, сабинен. Известно, что терпены и терпеноиды отвечают за антимикробное действие в отношении болезнетворных бактерий [76, 77]. Можжевельное масло обладает широким спектром активности против бактериальных и грибковых инфекций благодаря высокому содержанию оксигенированных монотерпенов [78]. Монотерпены, входящие в можжевельное масло, обладают антибактериальной активностью в отношении золотистого стафилококка, патогенных видов кишечной палочки [79–81]. Эвгенол, являющийся компонентом гвоздичного масла, входящего в «Масло Дыши», также обладает антимикробной активностью в отношении золотистого стафилококка, сальмонелл, кампилобактера, спорообразующих микроорганизмов [82, 83]. Фунгицидное действие ЭМ также проявляется более эффективно в паровой фазе по сравнению с жидкой фазой [84, 85]. Более выраженный эффект действия ЭМ в паровой фазе, по сравнению с жидкой, установлен в отношении различных грибов [84–87]. Эвгенол оказывает летальное воздействие на рост различных штаммов грибов, таких как *Fusarium graminearum*, *F. moniliforme*, *Tricophyton rubrum*, *Penicillium citrinum*, *Candida tropicalis*, *C. krusei* и *Aspergillus ochraceus*. Эвгенол либо вызывает остановку клеточного цикла, либо нарушает целостность клеточной мембраны грибка [86]. Показано, что эвгенол в минимальной ингибирующей концентрации оказался эффективным в отношении бактериально-грибковых биопленок. При этом значительно нарушались клеточные мембраны и матричные структуры микроорганизмов, снижалась их жизнеспособность [87]. Одним из компонентов «Масла Дыши» является эвкалиптовое масло, содержащее 1,8-цинеол, который потенцирует (усиливает) антибактериальный эффект амоксициллина и гентамицина в борьбе с метициллин-резистентным штаммом золотистого стафилококка. Исследование Li L. et al. (2014) показало, что 1,8-цинеол изменяет форму и размер бактериальной клетки (как грамотрицательных, так и грамположительных бактерий) [88]. Доказано, что эфирное масло

Таблица. Влияние паров «Масла Дыши» на популяционную структуру микроорганизмов по биопленкообразованию  
 Table. Effect of 'Dysh' oil vapor on the population structure of microorganisms by biofilm formation

Виды микроорганизмов / <i>Microorganism</i>	Контроль/Опыт / <i>Control/Experiment</i>	Средней уровень БПО (ед.ОП) / <i>Mean level of biofilm formation (OD units)</i> (M ± m)	Доля клонов, % / <i>Proportion of clones, %</i>			
			0,10–0,29 ед.ОП / <i>OD units</i>	0,30–0,49 ед.ОП / <i>OD units</i>	0,50–0,80 ед.ОП / <i>OD units</i>	>0,8 ед.ОП / <i>OD units</i>
<i>K. pneumoniae</i>	Контроль / <i>Control</i>	0,51 ± 0,02	0	20	70	10
	Опыт / <i>Experiment</i>	0,24 ± 0,01*	90	10	0	0
<i>E. coli</i>	Контроль / <i>Control</i>	0,28 ± 0,02	20	80	0	0
	Опыт / <i>Experiment</i>	0,12 ± 0,01*	97	3	0	0
<i>S. aureus</i>	Контроль / <i>Control</i>	0,88 ± 0,01	0	5	60	35
	Опыт / <i>Experiment</i>	0,31 ± 0,01*	20	75	5	0
<i>C. albicans</i>	Контроль / <i>Control</i>	0,61 ± 0,01	0	20	75	5
	Опыт / <i>Experiment</i>	0,22 ± 0,01*	85	15	0	0

\*  $p \leq 0,05$  в сравнении опытных проб в сравнении с контролем / \*  $p \leq 0.05$  when comparing the experimental samples and controls.

мяты перечной оказывает антибактериальный эффект в отношении *S. aureus* [89].

Одним из механизмов, обеспечивающих антимикробный эффект ЭМ, является их способность подавлять персистентный потенциал (БПО, АЛА и т.д.) бактерий и дрожжеподобных грибов. Отбор эфирных масел лекарственных растений, ингибирующих факторы персистенции микроорганизмов, является особым направлением для поиска эффективных и безопасных средств профилактики и лечения острых и хронических форм риносинусита.

Учитывая вышеизложенное, нами проведено экспериментальное исследование влияния паров комбинированного препарата «Масла Дыши» на АЛА и БПО бактерий и грибов, связанных с этиологией РС, на популяционном уровне. Исследуемые штаммы микроорганизмов выделены со слизистой полости носа детей с РС. Выделение клонов осуществляли путем посева суточной бульонной культуры на плотную питательную среду Мюллера–Хинтона (Cond, Испания). Чашки с посевом инкубировали в термостате при 37°C в течение 24 ч. На полученных чашках производили отбор 100 клонов исследуемых микроорганизмов, у которых в последующем определяли биологические свойства (АЛА, БПО) [90].

Оценку способности штаммов *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* и грибами рода *Candida* образовывать биопленку проводили по методу O'Toole (2000). Для этого из каждого клона штаммов готовили взвеси, которые инокулировали в лунки 96-луночной стерильной панели по 150 мкл в 3 повторах. Далее планшет закрывали крышкой, изнутри обработанной «Маслом Дыши» и инкубировали микроорганизмы при 37°C в течение 24 ч в термостате. Контролем служили пробы в планшетах, необработанных «Маслом Дыши». Через 24 ч образовавшиеся биопленки окрашивали 1%-м кристалл-виолетом и измеряли оптическую плотность (ОП) этого раствора при длине волны 540 нм. Интенсивность окрашивания содержимого лунок соответствовала степени БПО.

Для выявления АЛА бактерий и дрожжеподобных грибов использовали фотометрический метод О.В.Бухарина с соавт. (1999). Биомассу каждого клона исследуемых культур засеивали в 3 мл Шедлер-бульона (BVL, США). Посевы исследуемых микроорганизмов культивировали в термостате при 37°C в течение 24 ч. Далее получали супернатант клонов с помощью центрифугирования при 3000 об./мин в течение 15 мин. Супернатант объемом 0,9 мл смешивали

с 0,1 мл приготовленного раствора лизоцима (20 мкг/мл) и по 50 мкл смеси помещали в полистероловый планшет по вертикальным рядам. Планшет закрывали крышкой, обработанной «Маслом Дыши». Контролем служили пробы в планшетах, необработанных «Маслом Дыши». Планшеты инкубировали 60–120 мин при 37°C. Далее проводили замер АЛА в опытных и контрольных пробах по способности супернатанта лизировать ацетонированную культуру *Micrococcus luteus* ATCC 15307. Замер ОП проводили через 30 и 150 с после внесения в лунки микрококка. По степени лизиса суспензии тест-штамма рассчитывали АЛА исследуемой культуры. АЛА выражали в мкг/мл\*ОД.

Проведенный анализ полученных данных показал, что ЭМ, входящие в состав препарата «Масла Дыши», односторонне подавляли как АЛА бактерий, так и БПО культур *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* и грибов рода *Candida* на популяционном уровне, что свидетельствует о наличии выраженного антиперсистентного эффекта у паровой фазы «Масла Дыши».

Данные по изучению влияния препарата «Масла Дыши» на способность формировать биопленки популяцией бактерий и дрожжевой культурой представлены в таблице.

Культура *K. pneumoniae* в контроле характеризовалась высоким уровнем БПО (0,51 ± 0,02 ед. ОП). Популяция клебсиелл была представлена клонами с различным уровнем БПО, а наибольшая часть клонов находилась в области высоких (70%) и средних (20%) значений изучаемого признака. При влиянии паров «Масла Дыши» (опыт) среднепопуляционный уровень БПО штамма *K. pneumoniae* снижался на 53% в сравнении с контролем ( $p \leq 0,05$ ). Наряду с этим происходила внутривидовая перестройка исследуемого штамма клебсиеллы в сторону снижения (до полного исчезновения) доли клонов с высокими значениями изучаемого свойства и увеличением доли клонов с низкой способностью формировать биопленки. При этом подавляющая часть (90%) клонов находилась в области низких значений изучаемого признака. При изучении влияния ЭМ на способность формировать биопленки популяцией *E. coli*, *S. aureus* и грибов рода *Candida* были получены сходные данные, как и при влиянии на популяцию *K. pneumoniae*.

Результаты исследования влияния паров ЭМ препарата «Масла Дыши» на АЛА популяции грамотрицательных бактерий представлены на рис. 1.

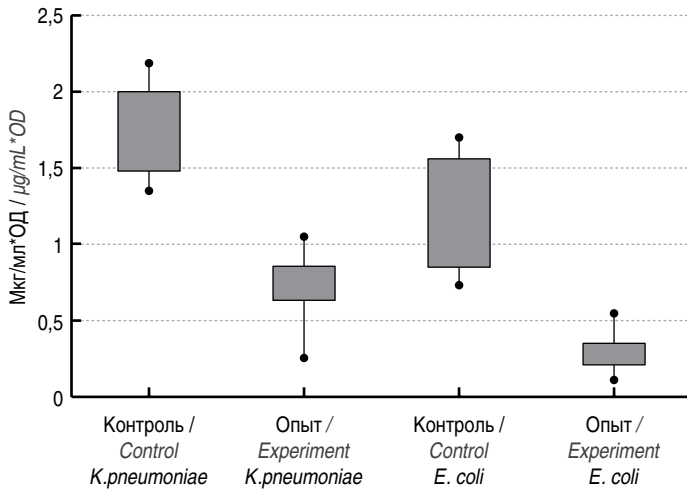


Рис. 1. Влияние паров «Масла Дыши» на популяционную структуру грамотрицательных бактерий по антилизозимному признаку.  
Fig. 1. Effect of 'Dyshi' oil vapor on the population structure of gram-negative bacteria by anti-lysozyme activity.

Популяции *K. pneumoniae* и *E. coli* в контроле характеризовались высоким и средним уровнем АЛА ( $1,86 \pm 0,2$  мкг/мл\*ОД и  $0,89 \pm 0,1$  мкг/мл\*ОД соответственно) и были представлены клонами с различной выраженностью АЛА. Подавляющая часть клонов *K. pneumoniae* (98%) находилась в области высоких значений изучаемого свойства ( $1,5-2,2$  мкг/мл\*ОД), у *E. coli* (80%) – в области средних значений ( $1,0-1,49$  мкг/мл\*ОД). При влиянии паров ЭМ в обеих популяциях изменялось соотношение клонов с высоким и низким уровнем АЛА, вплоть до исчезновения диссоциантов с выраженными свойствами и увеличение количества клонов с низким значением АЛА. Данные изменения характеризовались снижением среднепопуляционного значения признака для *K. pneumoniae* до  $0,65 \pm 0,1$  мкг/мл\*ОД, а для *E. coli* – до  $0,32 \pm 0,05$  мкг/мл\*ОД.

Аналогичная тенденция была выявлена при исследовании влияния препарата на популяции *S. aureus* и грибов рода *Candida* (рис. 2).

Популяция микроорганизмов в контроле характеризовалась высокой среднепопуляционной выраженностью АЛА ( $1,72 \pm 0,2$  мкг/мл\*ОД и  $1,68 \pm 0,1$  мкг/мл\*ОД соответственно) и была представлена преимущественно клонами с высоким уровнем данного признака. Воздействие паров «Масла Дыши» приводило к снижению среднего уровня АЛА на 75 и 78% от контрольного уровня свойства ( $p < 0,05$ ). Кроме того, происходила перестройка популяции культур в сторону снижения доли клонов с высокими и средними значениями исследуемого свойства, увеличение доли клонов с низкими значениями АЛА.

### Заключение

Таким образом, целесообразность использования паров «Масла Дыши» для профилактики и лечения РС обусловлено следующими основными моментами.

Во-первых, этиологически значимыми микроорганизмами в развитии острого и хронического РС являются условно-патогенные бактерии и дрожжеподобные грибы, заселяю-

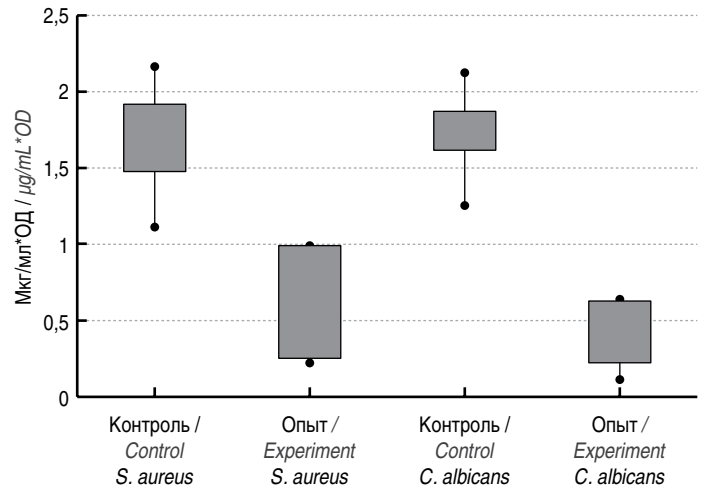


Рис. 2. Влияние паров масла «Дыши» на популяционную структуру штаммов *S. aureus* и *C. albicans* по антилизозимному признаку.  
Fig. 2. Effect of 'Dyshi' oil vapor on the population structure of *S. aureus* and *C. albicans* by anti-lysozyme activity.

щие слизистые ВДП. Доказана роль дисбиоза микрофлоры ВДП в качестве одного из центральных патогенетических звеньев РС.

Во-вторых, развитие и прогрессирование нарушений микробиоценоза ВДП и переход острого течения РС в хроническое связаны с наличием у условно-патогенных микроорганизмов ряда биологических свойств – факторов персистенции, среди которых особое, «базовое» значение принадлежит таким универсальным признакам, как БПО и способности инактивировать лизоцим (АЛА).

В-третьих, полученные результаты собственных исследований обнаружили способность препарата «Масло Дыши» подавлять персистентный потенциал условно-патогенных бактерий и дрожжеподобных грибов путем снижения их способности к БПО и инактивации лизоцима на популяционном уровне. Полученные данные расширяют наши представления о механизмах антимикробного действия «Масла Дыши» в отношении этиологически значимых микроорганизмов при РС у детей.

В этой связи альтернативным лечением, обеспечивающим антимикробное действие при РС, является использование эфирных масел лекарственных растений. Комбинированный препарат «Масло Дыши» обладает способностью ингибировать персистентный потенциал условно-патогенных микроорганизмов, повышая эффективность лечения как острого, так и хронического РС, препятствуя формированию хронических вариантов течения заболевания.

### Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

### Financial support

No financial support has been provided for this work.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.



### Информированное согласие

При проведении исследования было получено информированное согласие пациентов или их родителей либо законных представителей.

### Informed consent

In carrying out the study, written informed consent was obtained from all patients or their parents or legal representatives.

### Литература / References

1. Крюков АИ, Кунельская НЛ, Ивойлов АЮ, Мачулин АИ, Яновский ВВ. Применение топической терапии в лечении риносинусита у детей. *PMЖ*. 2017;19:1357-1359. / Kryukov AI, Kunelskaya NL, Ivoylov AYU, Machulin AI, Yanovskii VV. The topical therapy in the treatment of rhinosinusitis in children. *RMJ*. 2017;19:1357-1359. (In Russian).
2. Белов ВА, Белова ОИ. Рациональная антибактериальная терапия острого риносинусита у детей. *Медицинский совет*. 2015;1:28-31. / Belov VA, Belova OI. Rational antibiotic therapy of acute rhinosinusitis in children. *Medical Council*. 2015;1:28-31. (In Russian).
3. Карпова ЕП. Риносинусит в детской практике. *Практика педиатра*. 2010;2:26-29. / Karpova EP. Rinosinusit v detskoj praktike. *Praktika pediatria*. 2010;2:26-29. (In Russian).
4. Klimek L, Jutel M, Bousquet J, Agache I, Akdis CA, Hox V, et al. Management of patients with chronic rhinosinusitis during the COVID-19 pandemic—An EAACI position paper. *Allergy*. 2021 Mar;76(3):677-688. DOI: 10.1111/all.14629
5. Albu S. Chronic Rhinosinusitis – an update on epidemiology, pathogenesis and management. *J Clin Med*. 2020;9(7):2285. DOI:10.3390/jcm9072285
6. Fokkens WJ, Lund VJ, Hopkins C, Hellings PW, Kern R, Reitsma S, et al. European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps 2020. *Rhinology*. 2020 Feb 20;58(Suppl S29):1-464. DOI: 10.4193/Rhin20.600
7. Al-Mutairi D, Kilty SJ. Bacterial biofilms and the pathophysiology of chronic rhinosinusitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2011 Feb;11(1):18-23. DOI: 10.1097/ACI.0b013e3283423376
8. Tai J, Han MS, Kwak J, Kim TH. Association Between Microbiota and Nasal Mucosal Diseases in terms of Immunity. *Int J Mol Sci*. 2021 Apr 29;22(9):4744. DOI: 10.3390/ijms22094744
9. Vayssier-Taussat M, Albina E, Citti C, Cosson JF, Jacques MA, Lebrun MH, et al. Shifting the paradigm from pathogens to pathobiome: new concepts in the light of meta-omics. *Front Cell Infect Microbiol*. 2014 Mar 5;4:29. DOI: 10.3389/fcimb.2014.00029
10. Man WH, de Steenhuijsen PETERS WA, Bogaert D. The microbiota of the respiratory tract: gatekeeper to respiratory health. *Nat Rev Microbiol*. 2017 May;15(5):259-270. DOI: 10.1038/nrmicro.2017.14
11. Bogaert D, De Groot R, Hermans PW. *Streptococcus pneumoniae* colonisation: the key to pneumococcal disease. *Lancet Infect Dis*. 2004 Mar;4(3):144-54. DOI: 10.1016/S1473-3099(04)00938-7
12. Yun Y, Srinivas G, Kuenzel S, Linnenbrink M, Alnahas S, Bruce KD, et al. Environmentally determined differences in the murine lung microbiota and their relation to alveolar architecture. *PLoS One*. 2014 Dec 3;9(12):e113466. DOI: 10.1371/journal.pone.0113466
13. Olszak T, An D, Zeissig S, Vera MP, Richter J, Franke A, et al. Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. *Science*. 2012 Apr 27;336(6080):489-93. DOI: 10.1126/science.1219328
14. Gollwitzer ES, Saglani S, Trompette A, Yadava K, Sherburn R, McCoy KD, et al. Lung microbiota promotes tolerance to allergens in neonates via PD-L1. *Nat Med*. 2014 Jun;20(6):642-7. DOI: 10.1038/nm.3568
15. Dickson RP, Erb-Downward JR, Martinez FJ, Huffnagle GB. The Microbiome and the Respiratory Tract. *Annu Rev Physiol*. 2016;78:481-504. DOI: 10.1146/annurev-physiol-021115-105238
16. Rajeshwary A, Rai S, Somayaji G, Pai V. Bacteriology of symptomatic adenoids in children. *N Am J Med Sci*. 2013 Feb;5(2):113-8. DOI: 10.4103/1947-2714.107529
17. Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med*. 2014 May 21;6(237):237ra65. DOI: 10.1126/scitranslmed.3008599
18. Collado MC, Rautava S, Aakko J, Isolauri E, Salminen S. Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid. *Sci Rep*. 2016 Mar 22;6:23129. DOI: 10.1038/srep23129
19. Gomez de Agüero M, Ganal-Vonarburg SC, Fuhrer T, Rupp S, Uchimura Y, Li H, et al. The maternal microbiota drives early postnatal innate immune development. *Science*. 2016 Mar 18;351(6279):1296-302. DOI: 10.1126/science.aad2571
20. Koch MA, Reiner GL, Lugo KA, Kreuk LS, Stanbery AG, Ansaldo E, et al. Maternal IgG and IgA Antibodies Dampen Mucosal T Helper Cell Responses in Early Life. *Cell*. 2016 May 5;165(4):827-41. DOI: 10.1016/j.cell.2016.04.055
21. Bosch AATM, Levin E, van Houten MA, Hasrat R, Kalkman G, Biesbroek G, et al. Development of Upper Respiratory Tract Microbiota in Infancy is Affected by Mode of Delivery. *EBioMedicine*. 2016 Jul;9:336-345. DOI: 10.1016/j.ebiom.2016.05.031
22. Mika M, Mack I, Kortgen I, Qi W, Aebi S, Frey U, et al. Dynamics of the nasal microbiota in infancy: a prospective cohort study. *J Allergy Clin Immunol*. 2015 Apr;135(4):905-912.e11. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.12.1909
23. Stearns JC, Davidson CJ, McKeon S, Whelan FJ, Fontes ME, Schryvers AB, et al. Culture and molecular-based profiles show shifts in bacterial communities of the upper respiratory tract that occur with age. *ISME J*. 2015 May;9(5):1246-59. DOI: 10.1038/ismej.2014.250
24. Biesbroek G, Tsvitivadze E, Sanders EA, Montijn R, Veenhoven RH, Keijsers BJ, et al. Early respiratory microbiota composition determines bacterial succession patterns and respiratory health in children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014 Dec 1;190(11):1283-92. DOI: 10.1164/rccm.201407-12400C
25. Teo SM, Mok D, Pham K, Kusel M, Serralha M, Troy N, et al. The infant nasopharyngeal microbiome impacts severity of lower respiratory infection and risk of asthma development. *Cell Host Microbe*. 2015 May 13;17(5):704-15. DOI: 10.1016/j.chom.2015.03.008
26. Pettigrew MM, Laufer AS, Gent JF, Kong Y, Fennie KP, Metlay JP. Upper respiratory tract microbial communities, acute otitis media pathogens, and antibiotic use in healthy and sick children. *Appl Environ Microbiol*. 2012 Sep;78(17):6262-70. DOI: 10.1128/AEM.01051-12
27. Bomar L, Brugger SD, Yost BH, Davies SS, Lemon KP. *Corynebacterium accolens* Releases Antipneumococcal Free Fatty Acids from Human Nostril and Skin Surface Triacylglycerols. *mBio*. 2016 Jan 5;7(1):e01725-15. DOI: 10.1128/mBio.01725-15
28. Laufer AS, Metlay JP, Gent JF, Fennie KP, Kong Y, Pettigrew MM. Microbial communities of the upper respiratory tract and otitis media in children. *mBio*. 2011 Feb 1;2(1):e00245-10. DOI: 10.1128/mBio.00245-10
29. Bogaert D, Keijsers B, Huse S, Rossen J, Veenhoven R, van Gils E, et al. Variability and diversity of nasopharyngeal microbiota in children: a metagenomic analysis. *PLoS One*. 2011 Feb 28;6(2):e17035. DOI: 10.1371/journal.pone.0017035
30. Bogaert D, van Belkum A, Sluijter M, Luijendijk A, de Groot R, Rümke HC, et al. Colonisation by *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* in healthy children. *Lancet*. 2004 Jun 5;363(9424):1871-2. DOI: 10.1016/S0140-6736(04)16357-5
31. Spijkerman J, Prevaes SM, van Gils EJ, Veenhoven RH, Bruin JP, Bogaert D, et al. Long-term effects of pneumococcal conjugate vaccine on nasopharyngeal carriage of *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *H. influenzae* and *M. catarrhalis*. *PLoS One*. 2012;7(6):e39730. DOI: 10.1371/journal.pone.0039730
32. Hicks LA, Taylor TH Jr, Hunkler RJ. U.S. outpatient antibiotic prescribing, 2010. *N Engl J Med*. 2013 Apr 11;368(15):1461-2. DOI: 10.1056/NEJMc1212055

33. Liu CM, Price LB, Hungate BA, Abraham AG, Larsen LA, Christensen K, et al. *Staphylococcus aureus* and the ecology of the nasal microbiome. *Sci Adv*. 2015 Jun 5;1(5):e1400216. DOI: 10.1126/sciadv.1400216
34. Lim MY, Yoon HS, Rho M, Sung J, Song YM, Lee K, et al. Analysis of the association between host genetics, smoking, and sputum microbiota in healthy humans. *Sci Rep*. 2016 Mar 31;6:23745. DOI: 10.1038/srep23745
35. Vissing NH, Chawes BL, Bisgaard H. Increased risk of pneumonia and bronchiolitis after bacterial colonization of the airways as neonates. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013 Nov 15;188(10):1246-52. DOI: 10.1164/rccm.201302-02150C
36. de Steenhuijsen Piters WA, Huijskens EG, Wyllie AL, Biesbroek G, van den Bergh MR, Veenhoven RH, et al. Dysbiosis of upper respiratory tract microbiota in elderly pneumonia patients. *ISME J*. 2016 Jan;10(1):97-108. DOI: 10.1038/ismej.2015.99
37. Abreu NA, Nagalingam NA, Song Y, Roediger FC, Pletcher SD, Goldberg AN, et al. Sinus microbiome diversity depletion and *Corynebacterium tuberculo-stearicum* enrichment mediates rhinosinusitis. *Sci Transl Med*. 2012 Sep 12;4(151):151ra124. DOI: 10.1126/scitranslmed.3003783
38. Coburn B, Wang PW, Diaz Caballero J, Clark ST, Brahma V, Donaldson S, et al. Lung microbiota across age and disease stage in cystic fibrosis. *Sci Rep*. 2015 May 14;5:10241. DOI: 10.1038/srep10241
39. Copeland E, Leonard K, Carney R, Kong J, Forer M, Naidoo Y, et al. Chronic Rhinosinusitis: Potential Role of Microbial Dysbiosis and Recommendations for Sampling Sites. *Front Cell Infect Microbiol*. 2018 Feb 28;8:57. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00057
40. Hoggard M, Biswas K, Zoing M, Wagner Mackenzie B, Taylor MW, Douglas RG. Evidence of microbiota dysbiosis in chronic rhinosinusitis. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2017 Mar;7(3):230-239. DOI: 10.1002/alr.21871
41. Boase S, Foreman A, Cleland E, Tan L, Melton-Kreft R, Pant H, et al. The microbiome of chronic rhinosinusitis: culture, molecular diagnostics and biofilm detection. *BMC Infect Dis*. 2013 May 8;13:210. DOI: 10.1186/1471-2334-13-210
42. Gupta P, Sarkar S, Das B, Bhattacharjee S, Tribedi P. Biofilm, pathogenesis and prevention – a journey to break the wall: a review. *Arch Microbiol*. 2016 Jan; 198(1):1-15. DOI: 10.1007/s00203-015-1148-6
43. Jamal M, Tasneem U, Hussain T, Andleeb S. Bacterial biofilm: its composition, formation and role in human infections. *Res Rev J Microbiol Biotechnol*. 2015; 4:1-15.
44. Fastenberg JH, Hsueh WD, Mustafa A, Akbar NA, Abuzeid WM. Biofilms in chronic rhinosinusitis: Pathophysiology and therapeutic strategies. *World J Otorhinolaryngol Head Neck Surg*. 2016 May 5;2(4):219-229. DOI: 10.1016/j.wjorl.2016.03.002
45. Dlugaszewska J, Leszczynska M, Lenkowski M, Tatarska A, Pastusiak T, Szyfter W. The pathophysiological role of bacterial biofilms in chronic sinusitis. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2016 Aug;273(8):1989-94. DOI: 10.1007/s00405-015-3650-5
46. Pang Z, Raudonis R, Glick BR, Lin TJ, Cheng Z. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnol Adv*. 2019 Jan-Feb;37(1):177-192. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2018.11.013
47. Rather MA, Gupta K, Mandal M. Microbial biofilm: formation, architecture, antibiotic resistance, and control strategies. *Braz J Microbiol*. 2021 Dec;52(4):1701-1718. DOI: 10.1007/s42770-021-00624-x
48. Wang S, Xiang D, Tian F, Ni M. Lipopolysaccharide from biofilm-forming *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 induces macrophage hyperinflammatory responses. *J Med Microbiol*. 2021 Apr;70(4):001352. DOI: 10.1099/jmm.0.001352
49. You H, Zhuge P, Li D, Shao L, Shi H, Du H. Factors affecting bacterial biofilm expression in chronic rhinosinusitis and the influences on prognosis. *Am J Otolaryngol*. 2011 Nov-Dec;32(6):583-90. DOI: 10.1016/j.amjoto.2010.11.017
50. Wood AJ, Fraser J, Swift S, Amirapu S, Douglas RG. Are biofilms associated with an inflammatory response in chronic rhinosinusitis? *Int Forum Allergy Rhinol*. 2011 Sep-Oct;1(5):335-9. DOI: 10.1002/alr.20060
51. Duggan S, Leonhardt I, Hünninger K, Kurzai O. Host response to *Candida albicans* bloodstream infection and sepsis. *Virulence*. 2015;6(4):316-26. DOI: 10.4161/21505594.2014.988096
52. Kumar A, Alam A, Rani M, Ehtesham NZ, Hasnain SE. Biofilms: Survival and defense strategy for pathogens. *Int J Med Microbiol*. 2017 Dec;307(8):481-489. DOI: 10.1016/j.ijmm.2017.09.016
53. Cerca N, Jefferson KK, Oliveira R, Pier GB, Azeredo J. Comparative antibody-mediated phagocytosis of *Staphylococcus epidermidis* cells grown in a biofilm or in the planktonic state. *Infect Immun*. 2006 Aug;74(8):4849-55. DOI: 10.1128/IAI.00230-06
54. Hirschfeld J. Dynamic interactions of neutrophils and biofilms. *J Oral Microbiol*. 2014 Dec 17;6:26102. DOI: 10.3402/jom.v6.26102
55. White AN, Learman BS, Brauer AL, Armbruster CE. Catalase Activity is Critical for *Proteus mirabilis* Biofilm Development, Extracellular Polymeric Substance Composition, and Dissemination during Catheter-Associated Urinary Tract Infection. *Infect Immun*. 2021 Sep 16;89(10):e0017721. DOI: 10.1128/IAI.00177-21
56. Peters BM, Jabra-Rizk MA, O'May GA, Costerton JW, Shirtliff ME. Polymicrobial interactions: impact on pathogenesis and human disease. *Clin Microbiol Rev*. 2012 Jan;25(1):193-213. DOI: 10.1128/CMR.00013-11
57. Wolcott R, Costerton JW, Raoult D, Cutler SJ. The polymicrobial nature of biofilm infection. *Clin Microbiol Infect*. 2013 Feb;19(2):107-12. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2012.04001.x
58. Hall CW, Mah TF. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiol Rev*. 2017 May 1;41(3):276-301. DOI: 10.1093/femsre/fux010
59. Van Dyck K, Pinto RM, Pully D, Van Dijk P. Microbial Interkingdom Biofilms and the Quest for Novel Therapeutic Strategies. *Microorganisms*. 2021 Feb 17;9(2):412. DOI: 10.3390/microorganisms9020412
60. Nobile CJ, Johnson AD. *Candida albicans* Biofilms and Human Disease. *Annu Rev Microbiol*. 2015;69:71-92. DOI: 10.1146/annurev-micro-091014-104330
61. Lohse MB, Gulati M, Johnson AD, Nobile CJ. Development and regulation of single- and multi-species *Candida albicans* biofilms. *Nat Rev Microbiol*. 2018 Jan; 16(1):19-31. DOI: 10.1038/nrmicro.2017.107
62. Xie Z, Thompson A, Sobue T, Kashleva H, Xu H, Vasilakos J, et al. *Candida albicans* biofilms do not trigger reactive oxygen species and evade neutrophil killing. *J Infect Dis*. 2012 Dec 15;206(12):1936-45. DOI: 10.1093/infdis/jis607
63. Kernien JF, Johnson CJ, Bayless ML, Chovanec JF, Nett JE. Neutrophils From Patients With Invasive Candidiasis Are Inhibited by *Candida albicans* Biofilms. *Front Immunol*. 2020 Dec 3;11:587956. DOI: 10.3389/fimmu.2020.587956
64. Ksiezopolska E, Gabaldón T. Evolutionary Emergence of Drug Resistance in *Candida* Opportunistic Pathogens. *Genes (Basel)*. 2018 Sep 19;9(9):461. DOI: 10.3390/genes9090461
65. Бухарин ОВ, Перунова НБ. Микросимбиозноз. Екатеринбург: УрО РАН; 2014. / Bukharin OV, Perunova NB. Mikrosimbiotsenoz. Ekaterinburg: UrO RAN Publ; 2014. (In Russian).
66. Li XH, Lee JH. Antibiofilm agents: A new perspective for antimicrobial strategy. *J Microbiol*. 2017 Oct;55(10):753-766. DOI: 10.1007/s12275-017-7274-x
67. Parrino B, Schillaci D, Carnevale I, Giovannetti E, Diana P, Cirrincione G, et al. Synthetic small molecules as anti-biofilm agents in the struggle against antibiotic resistance. *Eur J Med Chem*. 2019 Jan 1;161:154-178. DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.10.036
68. Roy R, Tiwari M, Donelli G, Tiwari V. Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. *Virulence*. 2018 Jan 1;9(1):522-554. DOI: 10.1080/21505594.2017.1313372
69. Mahdavi A, Moradi P, Mastinu A. Variation in Terpene Profiles of *Thymus vulgaris* in Water Deficit Stress Response. *Molecules*. 2020 Feb 28;25(5):1091. DOI: 10.3390/molecules25051091



70. Gupta AK, Rather MA, Kumar Jha A, Shashank A, Singhal S, Sharma M, et al. *Artocarpus lakoocha* Roxb. and *Artocarpus heterophyllus* Lam. Flowers: New Sources of Bioactive Compounds. *Plants (Basel)*. 2020 Oct 9;9(10):1329. DOI: 10.3390/plants9101329
71. Карпова ЕП, Вагина ЕЕ. Лечение риносинусита у детей. Вопросы практической педиатрии. 2015;10(5):61-67. / Karpova EP, Vagina EE. Treatment of rhinosinusitis in children. *Clinical Practice in Pediatrics*. 2015;10(5):61-67. (In Russian).
72. Николаева СВ, Мельникова ВВ, Усенко ДВ. Эффективность ароматерапии в лечении и профилактике острых респираторных инфекций у детей. Вопросы практической педиатрии. 2019;14(1):63-69. / Nikolaeva SV, Melnikova VV, Usenko DV. Efficacy of aromatherapy in the treatment and prevention of acute respiratory infections in children. *Vopr. prakt. pediatri. (Clinical Practice in Pediatrics)*. 2019;14(1):63-69. DOI: 10.20953/1817-7646-2019-1-63-69 (In Russian).
73. Chimnoi N, Reuk-ngam N, Chuysinuan P, Khlaychan P, Khunnawutmanotham N, Chokchaichamnankit D, et al. Characterization of essential oil from *Ocimum gratissimum* leaves: antibacterial and mode of action against selected gastroenteritis pathogens. *Microb. Pathog.* 2018;118:290-300. DOI: 10.1016/j.micpath.2018.03.041
74. Радциг ЕЮ, Константинов ДИ. Роль биопленок в развитии и хронизации ЛОР-патологии и способы воздействия на них. Вопросы практической педиатрии. 2021;16(4):166-171. / Radtsig EYu, Konstantinov DI. Role of biofilms in the development and persistence of ENT infections and ways to disrupt biofilms. *Vopr. prakt. pediatri. (Clinical Practice in Pediatrics)*. 2021;16(4):166-171. DOI: 10.20953/1817-7646-2021-4-166-171 (In Russian).
75. Clemente I, Aznar M, Nerin C. Synergistic properties of mustard and cinnamon essential oils for the inactivation of foodborne moulds *in vitro* and on Spanish bread. *Int J Food Microbiol.* 2019 Jun 2;298:44-50. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2019.03.012
76. Kumar A, Premoli M, Aria F, Bonini SA, Maccarinelli G, Gianoncelli A, Memo M, Mastinu A. Cannabimimetic plants: are they new cannabinoidergic modulators? *Planta*. 2019 Jun;249(6):1681-1694. DOI: 10.1007/s00425-019-03138-x
77. Stephane FFY, Jules BKJ. Terpenoids as important bioactive constituents of essential oils. *Essent. Oils Bioact. Compd. New Perspect. Appl.* 2020. DOI: 10.5772/intechopen.91426
78. Dias N, Dias MC, Cavaleiro C, Sousa MC, Lima N, Machado M. Oxygenated monoterpenes-rich volatile oils as potential antifungal agents for dermatophytes. *Nat Prod Res.* 2017 Feb;31(4):460-464. DOI: 10.1080/14786419.2016.1195379
79. Soković M, Glamočlija J, Marin PD, Brkić D, van Griensven LJ. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model. *Molecules*. 2010 Oct 27;15(11):7532-46. DOI: 10.3390/molecules15117532
80. Herman A, Tambor K, Herman A. Linalool Affects the Antimicrobial Efficacy of Essential Oils. *Curr Microbiol.* 2016 Feb;72(2):165-172. DOI: 10.1007/s00284-015-0933-4
81. Bhavaniramy S, Vishnupriya S, Al-Aboody MS, Vijayakumar R, Baskaran D. Role of essential oils in food safety: antimicrobial and antioxidant applications. *Grain Oil Sci. Technol.* 2019;2:49-55. DOI: 10.1016/j.gaost.2019.03.00
82. García-Salinas S, Elizondo-Castillo H, Arruebo M, Mendoza G, Irusta S. Evaluation of the Antimicrobial Activity and Cytotoxicity of Different Components of Natural Origin Present in Essential Oils. *Molecules*. 2018 Jun 8;23(6):1399. DOI: 10.3390/molecules23061399
83. Guimarães AC, Meireles LM, Lemos MF, Guimarães MCC, Endringer DC, Fronza M, et al. Antibacterial Activity of Terpenes and Terpenoids Present in Essential Oils. *Molecules*. 2019 Jul 5;24(13):2471. DOI: 10.3390/molecules24132471

# Масло Дыши®

- ✓ Противовирусное<sup>1</sup>
- ✓ Антибиопленочное<sup>2</sup>
- ✓ Бесконтактное применение<sup>3</sup>



При ОРВИ: в 3 раза снижает заболеваемость и количество осложнений.<sup>4,6</sup>



84. Tullio V, Nostro A, Mandras N, Dugo P, Banche G, Cannatelli MA, et al. Antifungal activity of essential oils against filamentous fungi determined by broth micro-dilution and vapour contact methods. *J Appl Microbiol.* 2007 Jun;102(6):1544-50. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2006.03191.x
85. Fisher K, Phillips C. Potential antimicrobial uses of essential oils in food: Is citrus the answer? *Trends Food Sci. Technol.* 2008;19:156-164. DOI: 10.1016/j.tifs.2007.11.006
86. Pinto L, Bonifacio MA, De Giglio E, Cometa S, Logrieco AF, Baruzzi F. Unravelling the Antifungal Effect of Red Thyme Oil (*Thymus vulgaris* L.) Compounds in Vapor Phase. *Molecules.* 2020 Oct 16;25(20):4761. DOI: 10.3390/molecules25204761
87. Budzyńska A, Różalska S, Sadowska B, Różalska B. *Candida albicans* / *Staphylococcus aureus* Dual-Species Biofilm as a Target for the Combination of Essential Oils and Fluconazole or Mupirocin. *Mycopathologia.* 2017 Dec;182(11-12): 989-995. DOI: 10.1007/s11046-017-0192-y
88. Li L, Li ZW, Yin ZQ, Wei Q, Jia RY, Zhou LJ, et al. Antibacterial activity of leaf essential oil and its constituents from *Cinnamomum longepaniculatum*. *Int J Clin Exp Med.* 2014 Jul 15;7(7):1721-7.
89. Frankova A, Kloucek P, Smid J, Nedorostova L. Testing the antimicrobial activity of essential oils. *J Agric Sci.* 2011;44:71-74.
90. Гордеева СВ. Влияние алкилксибензолов на ростовые и персистентные характеристики микроорганизмов. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Оренбург; 2011. / Gordeeva SV. Vliyanie alkiloksisibenzolov na rostovye i persistentnye kharakteristiki mikroorganizmov. Avtoref. dis. ... kand. med. nauk. Orenburg; 2011. (In Russian).

#### Информация о соавторах:

Челпаченко Ольга Ефимовна, доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории биомониторинга и молекулярно-генетических исследований Института клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения РАН  
Адрес: 460000, Оренбург, ул. Пионерская, 11  
Телефон: (3532) 77-5908  
E-mail: oech57@gmail.com

Чайникова Ирина Николаевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры нормальной физиологии Оренбургского государственного медицинского университета; ведущий научный сотрудник Института клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения РАН  
Адрес: 460000, Оренбург, ул. Пионерская, 11  
Телефон: (3532) 77-5908  
E-mail: inchainicova@yandex.ru

Иванова Елена Валерьевна, кандидат медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории биомониторинга и молекулярно-генетических исследований Института клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения РАН  
Адрес: 460000, Оренбург, ул. Пионерская, 11  
Телефон: (3532) 77-5908  
E-mail: walerewna13@gmail.com

Перунова Наталья Борисовна, доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, заведующая лабораторией биомониторинга и молекулярно-генетических исследований Института клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения РАН  
Адрес: 460000, Оренбург, ул. Пионерская, 11  
Телефон: (3532) 77-5908

#### Information about co-authors:

Olga E. Chelpachenko, MD, PhD, DSc, Professor, Leading Researcher, Laboratory of Biomonitoring and Molecular-Genetic Studies, Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the RAS  
Address: 11 Pionerskaya str., Orenburg, 460000, Russian Federation  
E-mail: oech57@gmail.com

Irina N. Chaynikova, MD, PhD, DSc, Professor, Department of Normal Physiology, Orenburg State Medical University; Leading Researcher, Laboratory of Biomonitoring and Molecular-Genetic Studies, Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the RAS  
Address: 11 Pionerskaya str., Orenburg, 460000, Russian Federation  
E-mail: inchainicova@yandex.ru

Elena V. Ivanova, MD, PhD, Associate Professor, Leading Researcher, Laboratory of Biomonitoring and Molecular-Genetic Studies, Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences  
Address: 11 Pionerskaya str., Orenburg, 460000, Russian Federation  
E-mail: walerewna13@gmail.com

Natalya B. Perunova, MD, PhD, DSc, Corresponding Member of the RAS, Head of the Laboratory of Biomonitoring and Molecular-Genetic Studies, Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the RAS  
Address: 11 Pionerskaya str., Orenburg, 460000, Russian Federation