



САМАРСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
SAMARA UNIVERSITY

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ
БЕТА-ЛАКТАМНЫХ АНТИБИОТИКОВ ПОСЛЕ
ВОЗДЕЙСТВИЯ НА НИХ ИМПУЛЬСНЫМ МАГНИТНЫМ
ПОЛЕМ

Докладчик:

аспирант гр. А106

Самарского университета

Роденко Наталья Алексеевна

Самара 2022



Магнитно-импульсная обработка материалов (МИОМ)

Магнитно-импульсная обработка материалов относится к группе импульсных методов обработки, которые характеризуются высокой энергией и кратковременностью силового воздействия.



(а)



(б)

Рисунок 3 – Внешний вид магнитно-импульсной установки МИУ -15 (а) и МИУ-1 БИО (б)

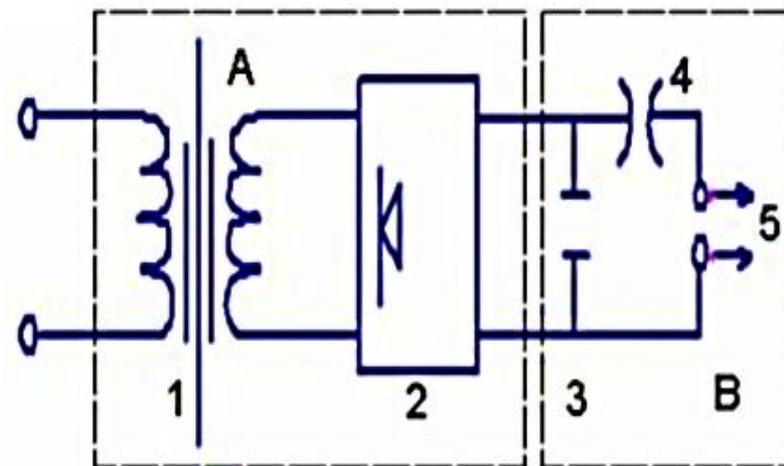


Рисунок 4 – Блок-схема магнитно-импульсной установки МИУ

- 1 – повышающий трансформатор,
- 2 – выпрямитель,
- 3 – батареи конденсаторов,
- 4 – разрядник,
- 5 – зажимное устройство для подключения индуктора.



Цели и задачи работы

Цель работы: исследование изменения биологической активности бета-лактамовых антибиотиков и изучение механизма изменения активности после действия на них импульсным магнитным полем высокой напряженности.

Задачи:

1. Исследование изменения биологической активности бета-лактамовых антибиотиков и оценка времени действия эффекта после воздействия ИМП на исследуемое вещество.
2. Оценка возникновения тепловых и акустических эффектов после действия ИМП на антибактериальный препарат.
3. Изучение изменения структуры молекулы антибиотика после действия на него ИМП с помощью методов ИК-Фурье спектроскопии, УФ-спектроскопии и ЯМР-спектроскопии.
4. Оценка безопасности применения антибактериального препарата после магнитно-импульсной обработки.
5. Апробация предлагаемого метода по изучению повышения биологической активности обработанного ИМП антибактериального препарата на лабораторных мышах.
6. Оценка влияния ИМП на другие бета-лактамовые антибиотики, а также исследование биологической активности бензилпенициллина натриевой соли в отношении других микроорганизмов.



Области применения магнитно-импульсной обработки в биологических, медицинских и технологических целях

ИМП

↓
Стимуляция
всхожести семян



↓
Импульсная магнитотерапия



↓
Штамповка, сварка и сборка



Сборка «металл-неметалл»



Применение магнитно-импульсной сварки

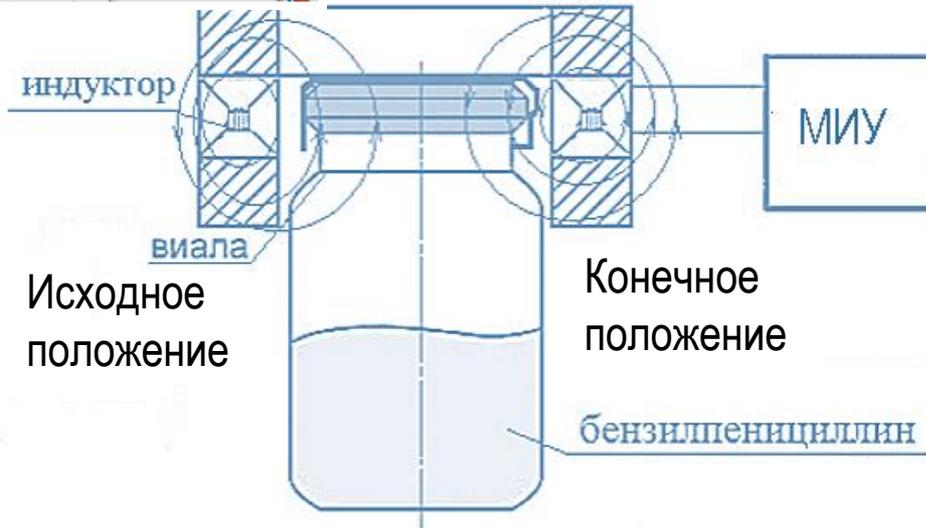


Рисунок 5 – Укупорка (сборка) пенициллинового флакона



Влияние магнитных полей на химические и биологические реакции (патентно-литературный обзор)



Выявлены наиболее близкие к теме работы:

- по воздействию постоянного магнитного поля на лекарственные препараты;
- по возрастанию сорбционной способности газов на полимерных пленках;
- по воздействию низкочастотного ИМП на кровь *in vitro*, происходит изменение вторичной структуры глобулярных белков;
- по воздействию ИМП на культуру мезенхимальных стволовых клеток человека, что приводит к мгновенному обратимому повреждению цитоплазматических мембран клеток.

Влияние ИМП с параметрами применяемыми на бета-лактамы антибиотики и другие лекарственные препараты не выявлено.

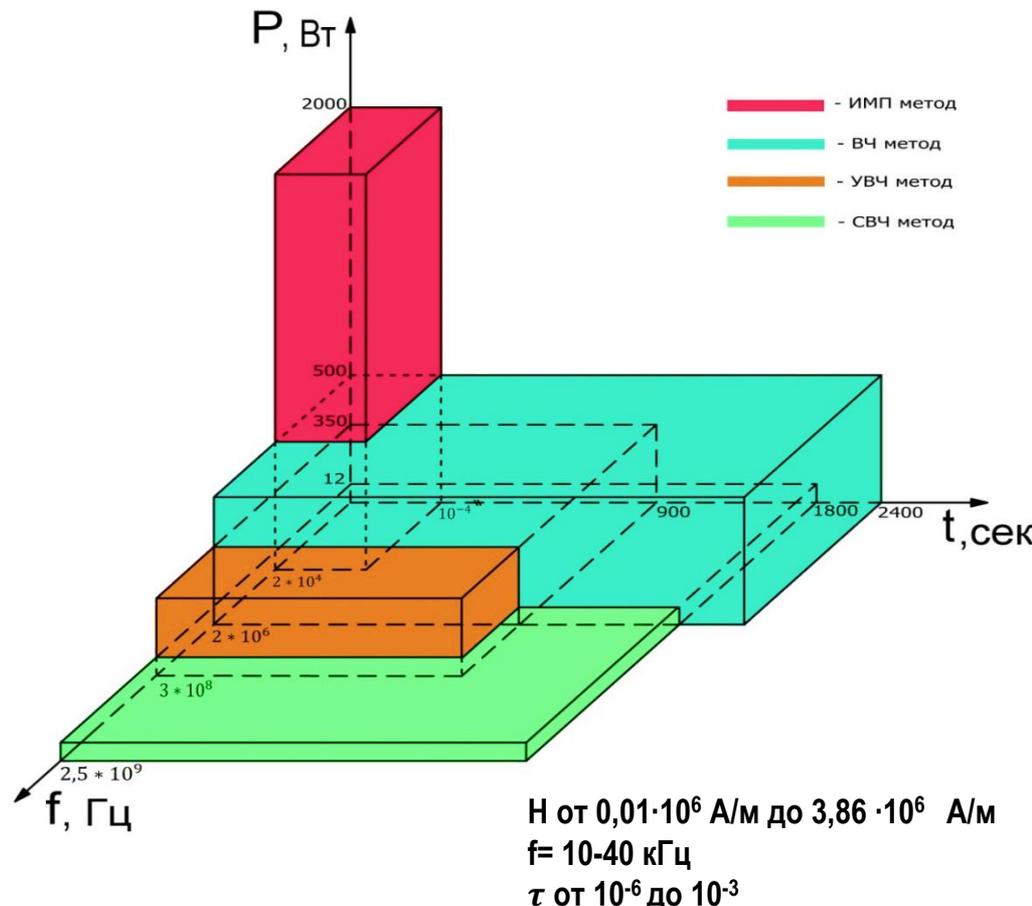


Рисунок 6 – Параметры воздействия различных методов



Методика проведения эксперимента

Обработка ИМП антибиотика осуществлялась на кафедре обработки металлов давлением в Самарском университете

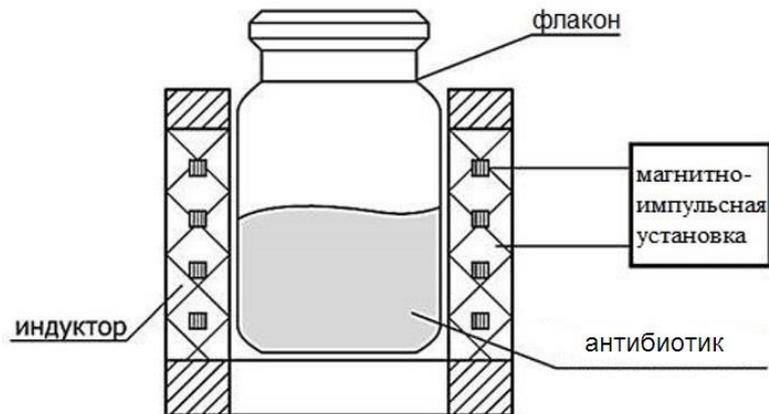


Рисунок 7 – Схема воздействия на антибиотик ИМП Рисунок 8 – Вид экспериментального стенда



(a)



(б)

Рисунок 9 – Внешний вид экспериментального комплекса с одновитковым индуктором (а) и многовитковым индуктором (б)



Программа экспериментов по изучению антибактериальной активности бензилпенициллина натриевой соли в порошкообразном виде

Таблица 1 – Параметры воздействия ИМП на аптечный бензилпенициллин

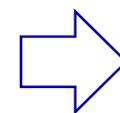
W , кДж	0,45	0,81	1,00	1,27	1,83	2,49	3,25	4,11	5,08	6,14
U , кВ	3,0	4,0	4,5	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0
H (одновитковый индуктор), А/м 10^6	0,09	0,16	0,20	0,25	0,37	0,50	0,65	0,82	1,02	1,23
f , кГц	40									
n	1									

Таблица 2 – Параметры воздействия ИМП на чистую субстанцию бензилпенициллина

W , кДж	0,45	2,49	4,11
U , кВ	3,0	7,0	9,0
H (одновитковый индуктор), А/м 10^6	0,09	0,50	0,82
f , кГц	40		
n	1		

W -энергия, U -напряжение заряда батареи конденсаторов, H -напряженность магнитного поля, f -частота разряда, n -количество импульсов

$$W = \frac{CU^2}{2}$$



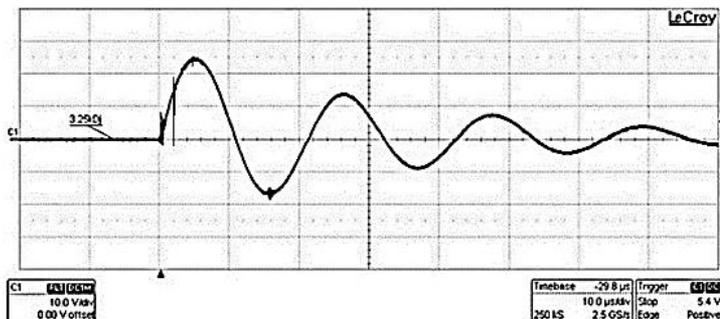
количество энергии, кДж



Программа экспериментов по изучению антибактериальной активности бензилпенициллина натриевой соли в растворе

Таблица 3 – Параметры воздействия ИМП на раствор бензилпенициллина натриевой соли с одно и многовитковым индукторами

W , кДж			1,00	3,25	5,08
U , кВ			4,50	8,0	10,0
H_1 (одновитковый индуктор), А/м · 10 ⁶			0,2	0,65	1,02
H_2 (многовитковый индуктор), А/м · 10 ⁶			7,65	13,38	17,2
f , кГц	Индуктор	одновитковый	10	10	10
		многовитковый	40	40	40
n	Индуктор	одновитковый	1	1	1
		многовитковый	3	3	3



- $H = 0,65 \cdot 10^6$ А/м;
- $f = 40$ кГц.

Рисунок 10 – Осциллограмма ИМП



Процесс подготовки и проведения экспериментов по изучению антибактериальной активности антибиотика

Исследование антибактериальной активности антибиотика после обработки ИМП производилось на кафедре биохимии, биотехнологии и биоинженерии Самарского университета

Воздействие ИМП на порошок антибиотика

Разведение антибиотика до нужной концентрации, распределение по поверхности чашки Петри по 0,1 мл инокулянта *Escherichia coli*

Размещение дисков на поверхности чашки и нанесение на них по 10 мкл раствора антибиотика

Размещение чашек Петри в термостат при температуре 30°C в течение 18 часов

Измерение зон лизиса



Эксперименты по обнаружению свободных радикалов после обработки ИМП бензилпенициллина

Исследования выполнялись на базах Московского Государственного Университета Технологий и Управления имени К.Г. Разумовского (филиал в г. Мелеуз) и Башкирского государственного медицинского университета (г. Уфа)

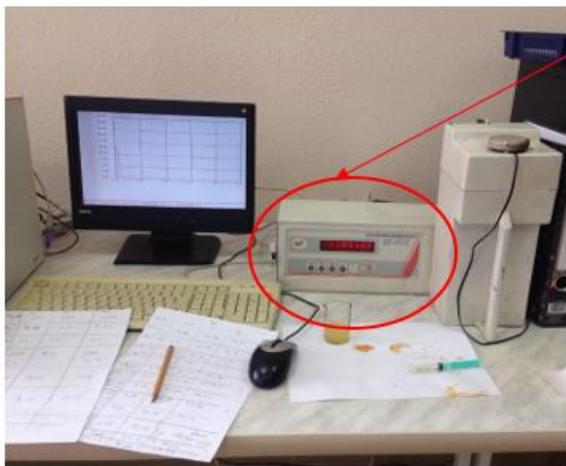


Рисунок 11 – Внешний вид хемилюминомера «ХЛМ-003»



Экспериментальная работа осуществлялась на территории Федерального государственного учреждения науки Института фундаментальных проблем биологии Российской академии наук в лаборатории молекулярной спектроскопии (г. Пущино).



Рисунок 12 – Установка ЭПР-спектрометра

Оценка острой токсичности после обработки ИМП антибиотика

Исследования выполнялись на белых беспородных мышах при внутрибрюшинном введении бензилпенициллина до и после обработки ИМП (обработка антибиотика порошкообразном виде с дальнейшим разведением) в различных дозах: 100, 150, 200, 250, 275, 300 мг/кг.

Количество вводимого вещества рассчитывали по объему введенного раствора в зависимости от массы тела с учетом максимально допустимого количества жидкости.

Наблюдение за опытными группами проводилось в течение 14 суток



Рисунок 13 – Опытная группа животных

Исследования выполнялись на базе Московского Государственного Университета Технологий и Управления имени К.Г. Разумовского (филиал в г. Мелеуз).



Эксперимент по изучению структуры молекулы бензилпенициллина после обработки ИМП методом ИК-Фурье спектроскопии

Исследование проводили на базе Самарского университета в лаборатории кафедры оптики и спектроскопии



Рисунок 14 – Внешний вид ИК-Фурье спектрометра

Порошок бензилпенициллина тщательно растирался в агатовой ступке с KBr в отношении 1:100



Исследуемая смесь помещалась в кювету в специальном держателе, после чего регистрировались спектры диффузного отражения



Регистрация спектров со спектральным разрешением 4 см^{-1} , количество сканов – 20



Эксперимент по изучению структуры молекулы бензилпенициллина после обработки ИМП методом УФ-спектроскопии

Исследование проводили на базе Института органической и физической химии им. А. Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН



Рисунок 15 – Внешний вид УФ-спектрометра

Готовили растворы бензилпенициллина натриевой соли до и после обработки ИМП с концентрациями $C=10^{-5}$ моль/л и $C=3 \cdot 10^{-5}$ моль/л



Измерительную кювету заполняли полученным раствором, а сравнительную – растворителем (деионизированная вода MilliQ)



УФ-спектры регистрировались при комнатной температуре при скорости сканирования образца 480 нм/мин с щелью 1 нм



Эксперимент по изучению структуры молекулы бензилпенициллина после обработки ИМП методом ЯМР-спектроскопии

Исследование проводили на базе Института органической и физической химии им. А. Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН

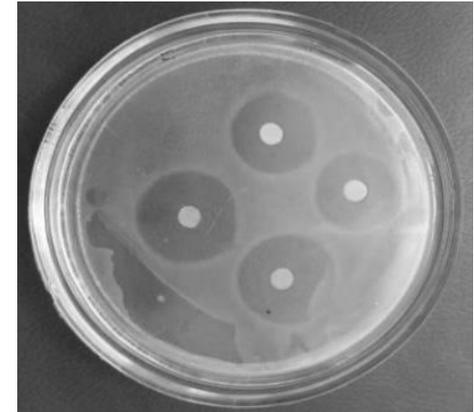
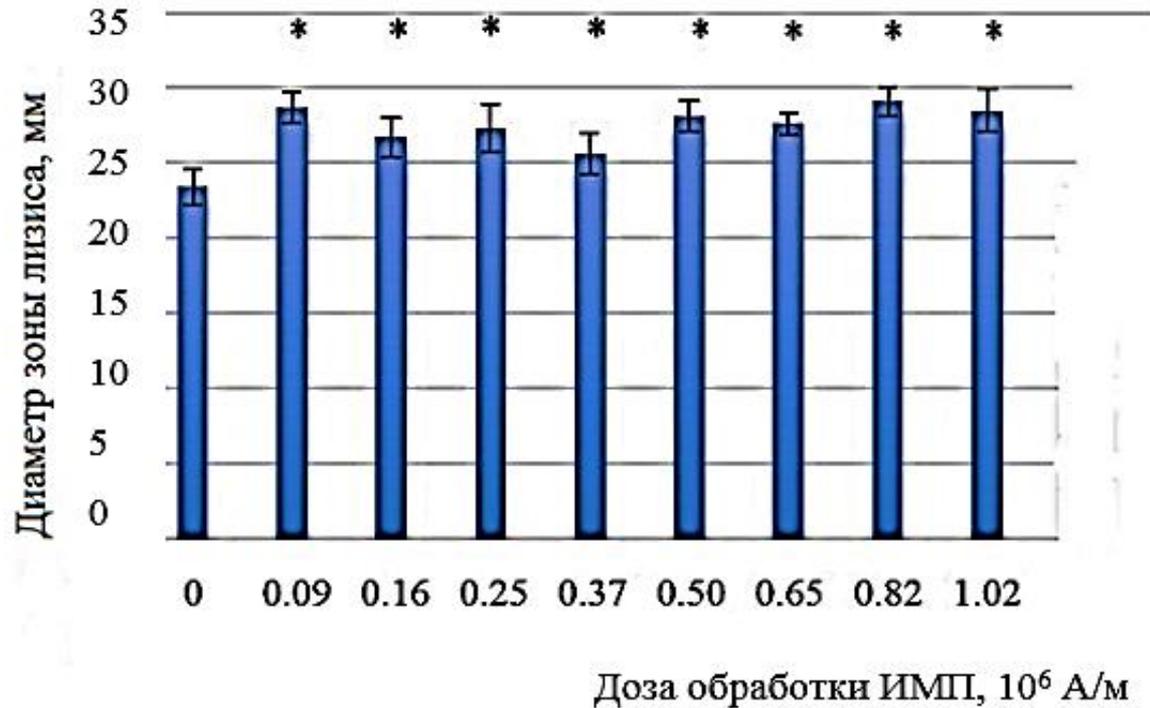


Бензилпенициллина натриевая соль подвергалась воздействию ИМП в порошкообразном состоянии, готовился раствор антибиотика в дейтерированной воде (D_2O) с конечной концентрацией $C = 13,3$ мМ.



Спектры ЯМР записаны на протонах, регистрация осуществлялась в идентичных условиях – частота прибора 400 МГц.

Рисунок 16 – Внешний вид ЯМР-спектрометра



Контроль

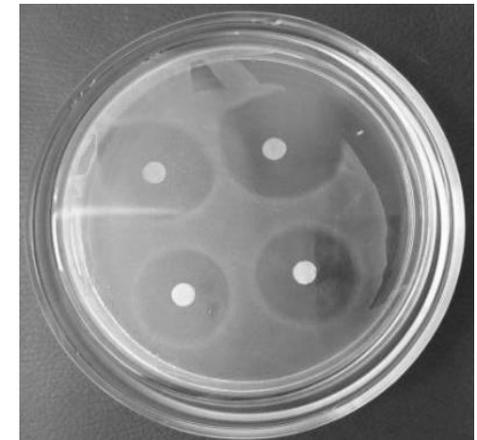


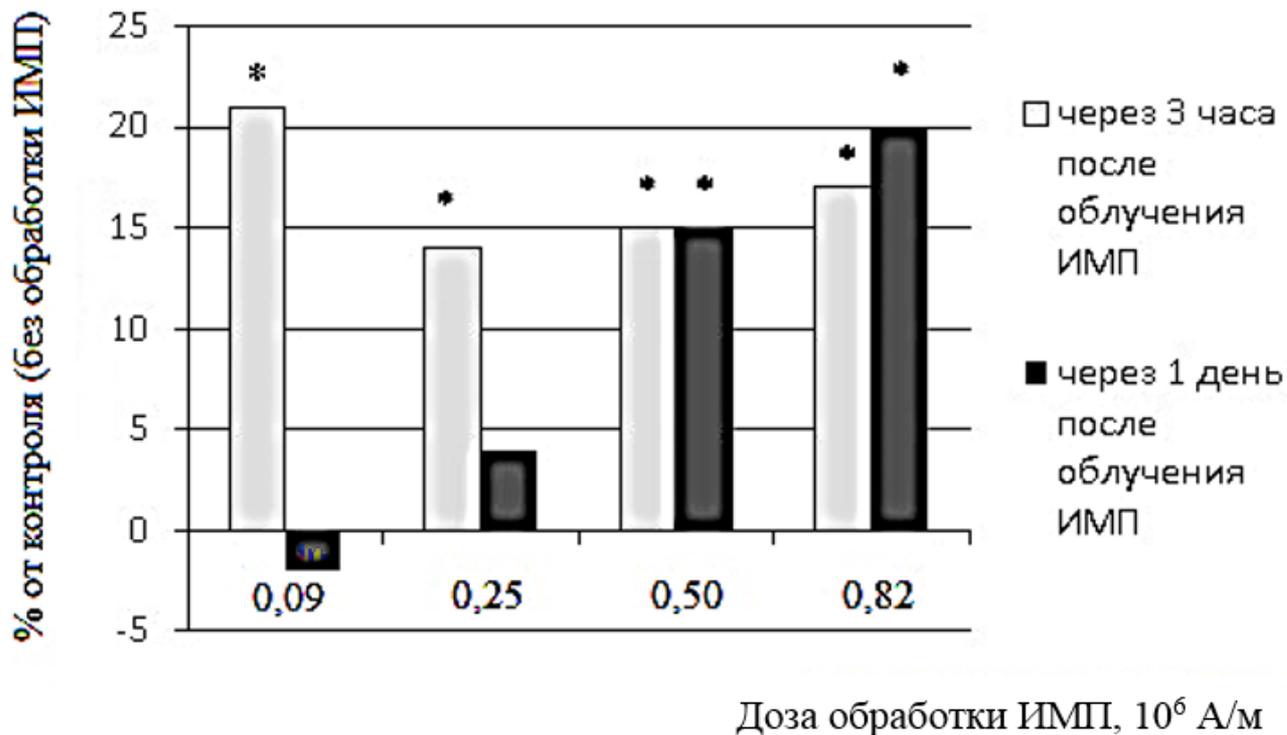
Рисунок 17 – Диаметры зон подавления роста *E. coli* при воздействии ИМП аптечный бензилпенициллин, $p < 0,05$

На всех режимах воздействия ИМП на порошкообразный бензилпенициллин наблюдается достоверный рост диаметров зоны лизиса d на 12-24%.

$H=0,09 \cdot 10^6$ А/м, $f=40$ кГц, $n=1$



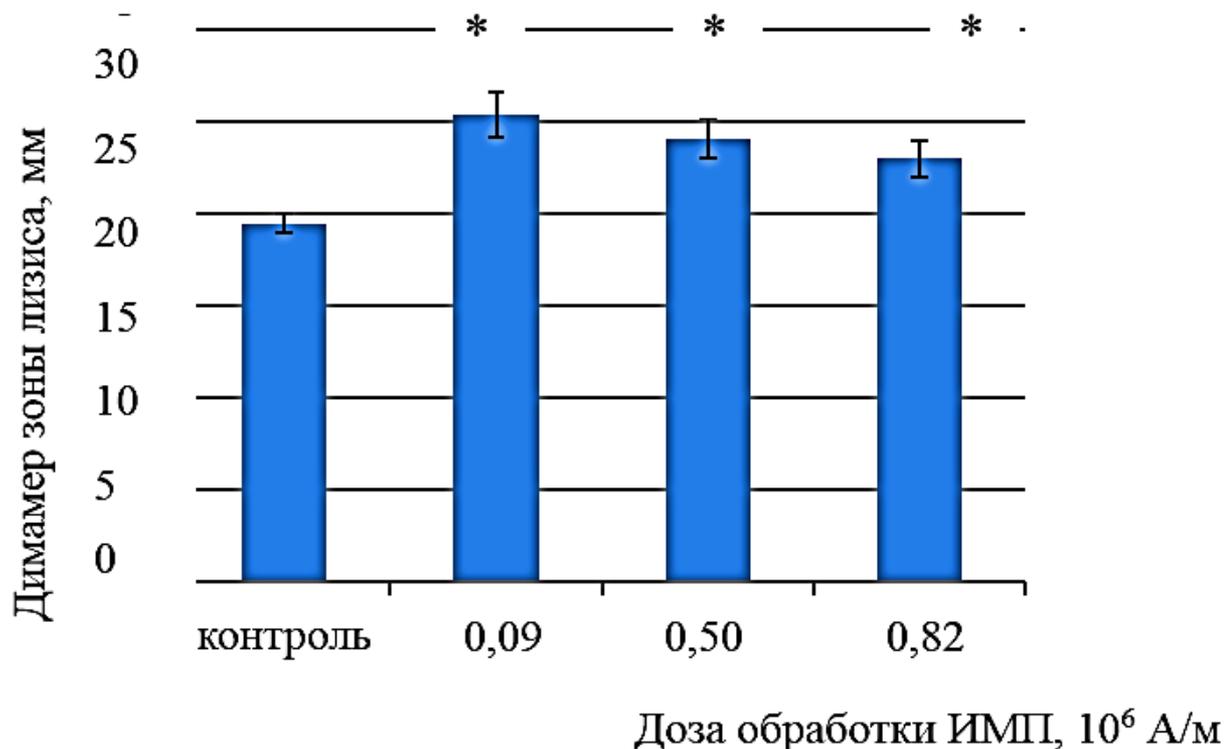
Результаты исследований по изменению антибактериальной активности порошкообразного бензилпенициллина натриевой соли во времени



Доза обработки ИМП, 10^6 А/м

Рисунок 18 – Изменение диаметров зон лизиса бензилпенициллина после обработки ИМП с течением времени, $p < 0,05$

При увеличении времени хранения облученного порошка бензилпенициллина натриевой соли до 1 суток возрастание антибактериальной активности антибиотика сохраняется только в условиях его облучения ИМП высокой напряженности $0,50 \cdot 10^6$ А/м и $0,82 \cdot 10^6$ А/м м, при слабом воздействии ИМП с напряжением $0,09 \cdot 10^6$ А/м и $0,50 \cdot 10^6$ А/м диаметры зон подавления роста *E.coli* не отличались от контроля.



Контроль

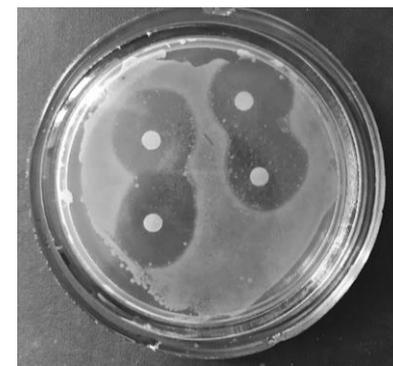


Рисунок 19 – Диаметры зон подавления роста *E. coli* при воздействии ИМП на чистую субстанцию бензилпенициллина, $H=0,09 \cdot 10^6$ А/м, $f=40$ кГц, $n=1$, $p < 0,05$

При всех режимах воздействия ИМП на чистую субстанцию бензилпенициллина наблюдается достоверный рост диаметров зоны лизиса на 18–31%.

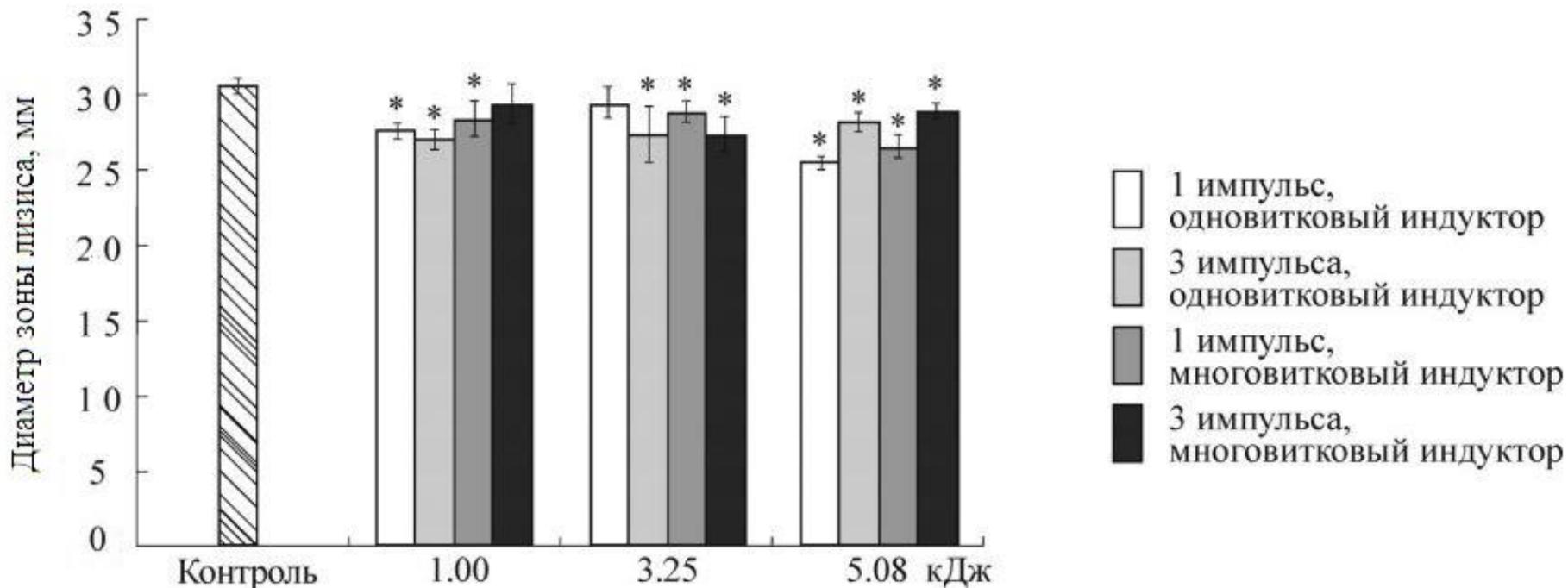


Рисунок 20 - Диаметры зон подавления роста *E. coli* при воздействии бензилпенициллина натриевой соли в растворе, $p < 0,05$

При всех режимах воздействия ИМП на раствор аптечного бензилпенициллина наблюдается достоверное снижение диаметров зоны лизиса на 8-10%.



Исследование антибактериальной активности бензилпенициллина натриевой соли в отношении грамположительный микроорганизмов *Staphylococcus aureus*

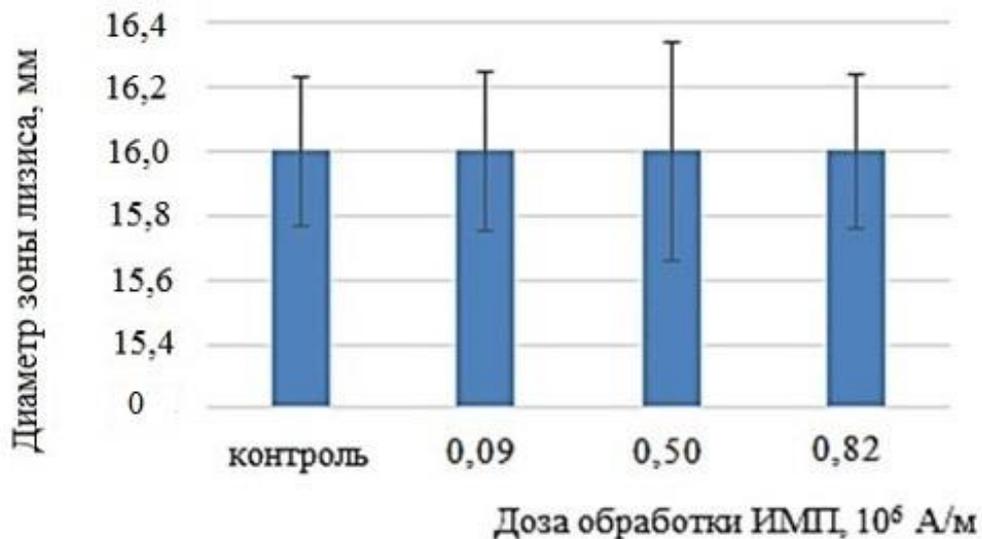


Рисунок 21- Диаметры зон подавления роста *Staphylococcus aureus* при воздействии ИМП на аптечную порошкообразную бензилпенициллина натриевую соль



Staphylococcus aureus в чашке Петри

Изучение биологической активности порошкообразного аптечного бензилпенициллина натриевой соли после обработки ИМП с напряженностями $H=0,09 \cdot 10^6$ А/м, $H=0,50 \cdot 10^6$ А/м и $H=0,82 \cdot 10^6$ А/м, числом импульсов $n=1$ и частотой $f=40$ кГц в отношении грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* не способствовало изменению антибактериальной активности антибиотика.



Исследование антибактериальной активности бензилпенициллина натриевой соли в отношении грамположительный микроорганизмов *Micrococcus luteus*

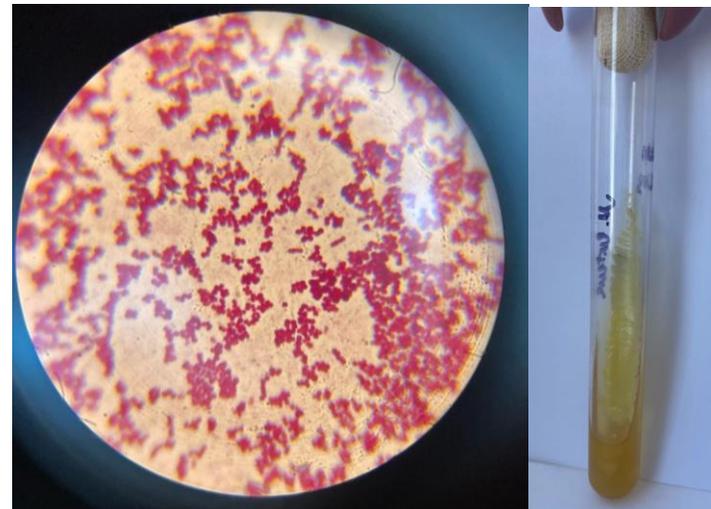
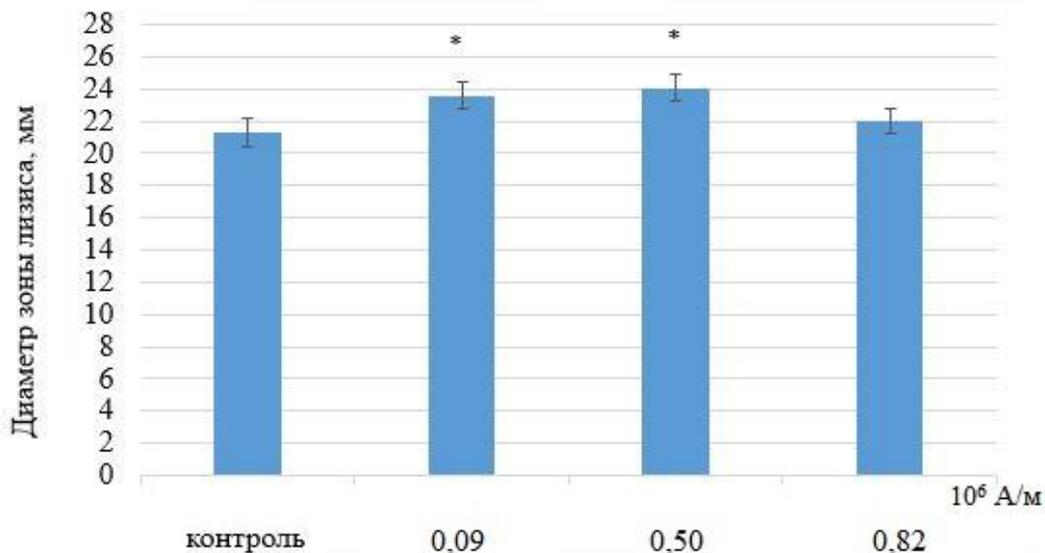


Рисунок 22 - Диаметры зон подавления роста *E. coli* при воздействии ИМП на порошкообразную бензилпенициллина натриевую соль, $p < 0,05$

Грамположительные бактерии
Micrococcus luteus

Исследование порошкообразного аптечного бензилпенициллина натриевой соли после обработки ИМП в отношении грамположительных бактерий *Micrococcus luteus* способствовало увеличению биологической активности при напряженностях $H=0,09 \cdot 10^6$ А/м и $H=0,50 \cdot 10^6$ А/м на 11 и 13 % соответственно.

Результаты по изучению образования теплового эффекта

В раствор бензилпенициллина натриевой соли помещалась хромель-копелевая термопара, соединенная с осциллографом (тестером), измеряющим возникающая при температуре ЭДС.



Теплового эффекта при воздействии ИМП на бензилпенициллина натриевую соль не обнаружено

Рисунок 23 - Внешний вид комплекса технологической оснастки, измерительной аппаратуры и пенициллинового пузырька с термопарой



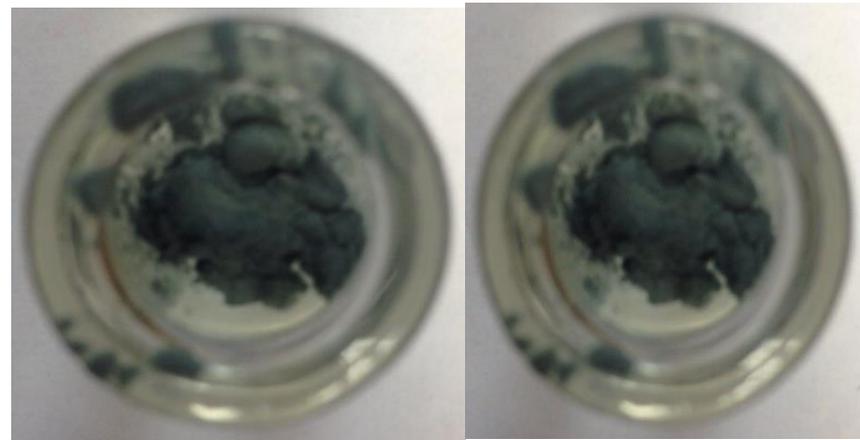
При прохождении через раствор акустической волны, должны наблюдаться макро или микроперемещения тел внутри раствора.



а

б

Рисунок 20 - Исследуемый объект (а)-до и (б)-после воздействия ИМП



а

б

Рисунок 24 - Исследуемый объект (а)-до и (б)-после воздействия ИМП

Акустического эффекта-воздействия ИМП на раствор бензилпенициллина натриевой соли не зафиксирован

Установлено, что обработка импульсным магнитным полем сухой субстанции бензилпенициллина натриевой соли не вызывала активацию хемилюминесценции по сравнению с необлученным образцом, а значит образования свободных радикалов не происходило.

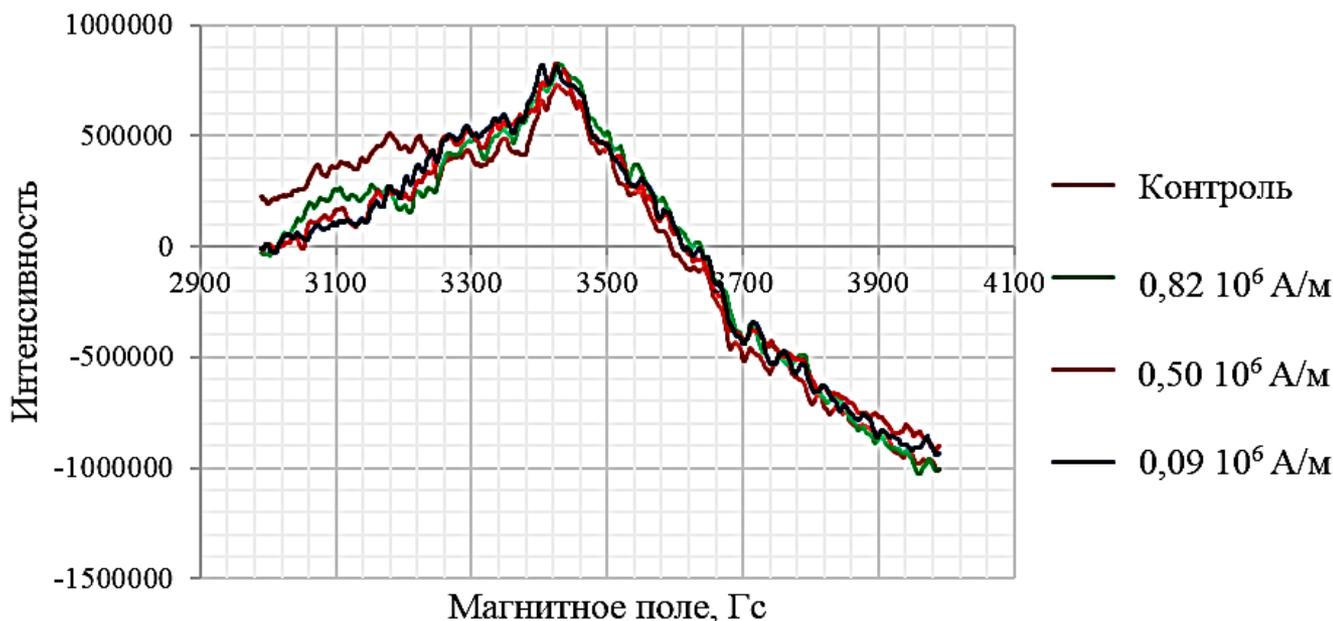


Рисунок 25 – Спектры ЭПР исследуемых образцов бензилпенициллина натриевой соли

При исследовании электронного парамагнитного резонанса не было зафиксировано каких-либо изменений в концентрации радикалов после обработки импульсным магнитным полем по сравнению с необлученным образцом.

Таблица 4 – Показатели острой токсичности бензилпенициллина натриевой соли до и после обработки ИМП

Примечание: I группа – бензилпенициллина натриевая соль, подвергшаяся облучению импульсным электромагнитным полем.

II группа – бензилпенициллина натриевая соль, не подвергшаяся облучению импульсным электромагнитным полем

Шифр	I группа	II группа
LD50, мг/мл	176,4	177,3

Установлено, что обработка магнитным сухой субстанции бензилпенициллина натриевой соли не сопровождается увеличением токсичности

Сравнение спектров чистой химической субстанции (импортный каталожный препарат) и аптечного лекарственных препаратов показал полное сходство их структур.

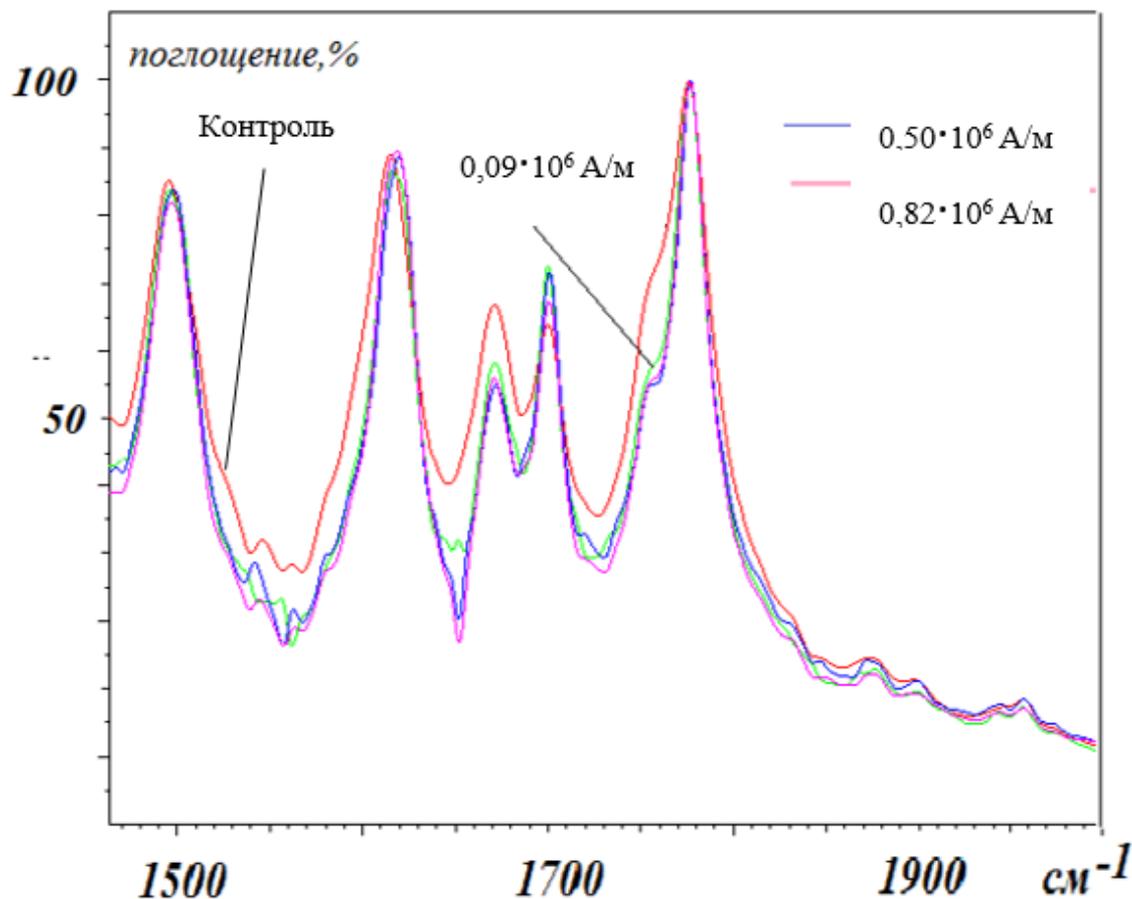


Рисунок 26 – Полосы поглощения в карбонильной области ИК-Фурье спектров аптечного антибиотика

Результаты эксперимента по изучению структуры молекулы бензилпенициллина после обработки ИМП методом УФ-спектроскопии

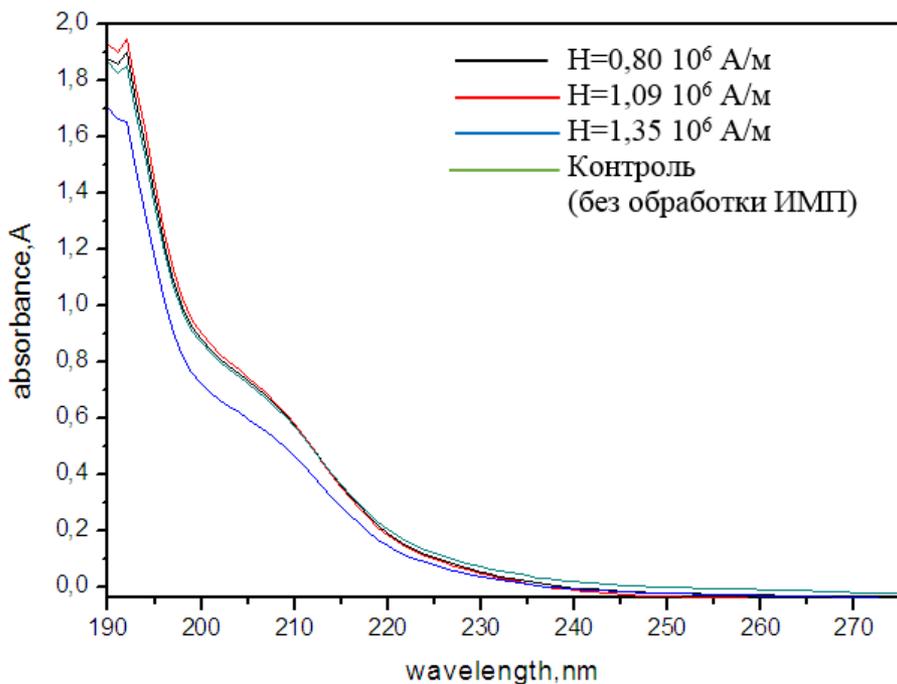


Рисунок 27 – УФ-спектры обработанного ИМП молекул бензилпенициллина натриевой соли (при концентрации $3 \cdot 10^{-5}$ моль/л)

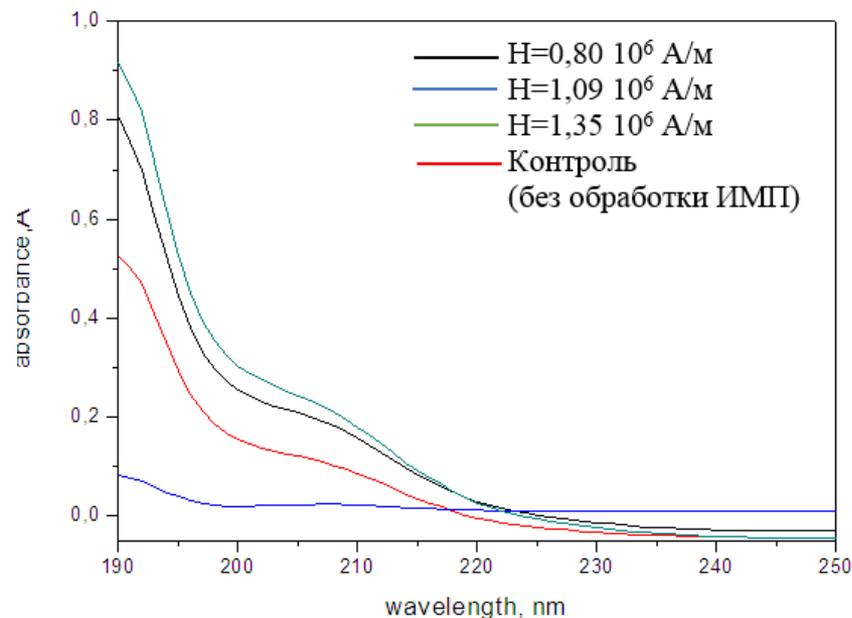


Рисунок 28 – УФ-спектры обработанного ИМП молекул бензилпенициллина натриевой соли (при концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л)

Под воздействием ИМП молекула препарата переходит в возбужденное состояние.

В условиях дополнительного энергетического влияния магнитного поля изменяются геометрия и энергетика молекулы антибиотика.



Результаты по изучению влияния ИМП на изменение состава антибиотика

Анализ протонных спектров аптечной и импортной субстанций без обработки ИМП и сравнение их с симулированным программой MestreNova показал их сходство: вид и положение сигналов протонов практически полностью совпадают.

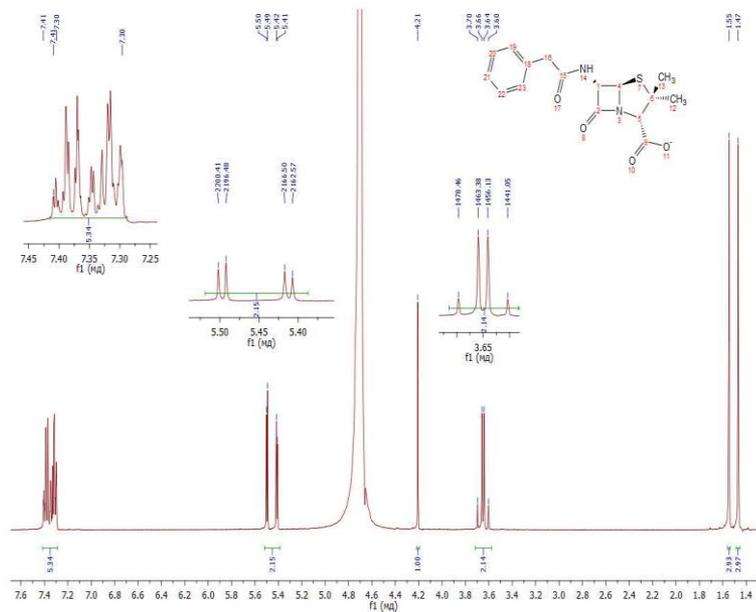


Рисунок 29 – Спектр ЯМР ^1H бензилпенициллина натриевой соли (импортный препарат)

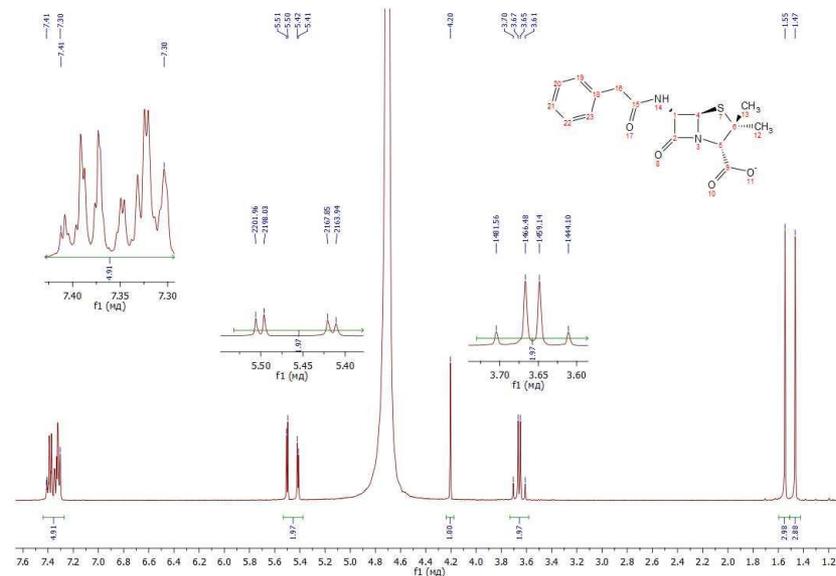


Рисунок 30 – Спектр ЯМР ^1H чистой субстанции бензилпенициллина натриевой соли, обработанной при $H=0,80 \cdot 10^6 \text{ A/m}$

Методом ЯМР-спектроскопии не выявлено изменений в структуре молекулы бензилпенициллина натриевой соли после обработки ИМП.



Исследование антибактериальной активности других бета-лактамных антибиотиков после обработки ИМП

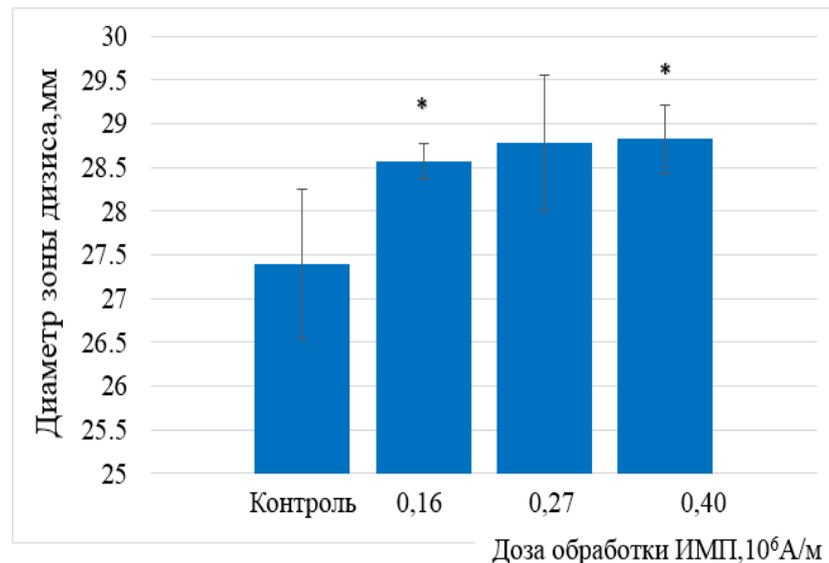
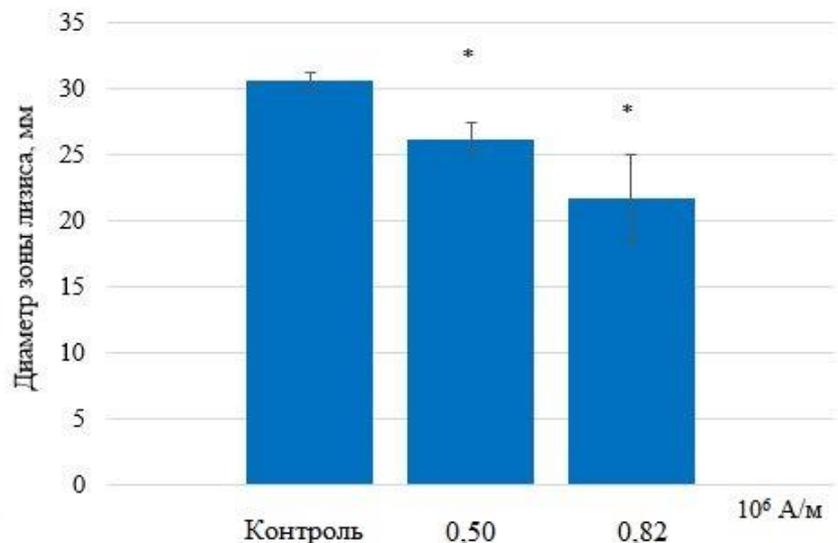


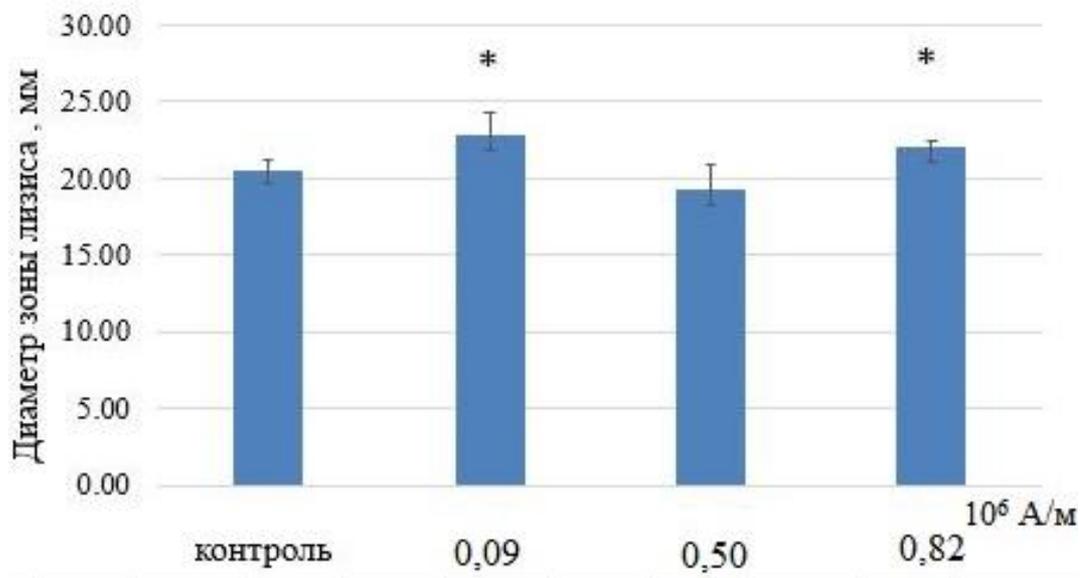
Рисунок 31 – Диаметры зон подавления роста *E. coli* при воздействии ИМП на порошкообразный аптечный цефтриаксон натрия $p < 0,05$

При обработке порошкообразного цефтриаксона натрия с напряженностями $H=0,50 \cdot 10^6$ А/м и $H=0,82 \cdot 10^6$ А/м наблюдается достоверное уменьшение диаметров зоны лизиса на 16 и 29% соответственно.

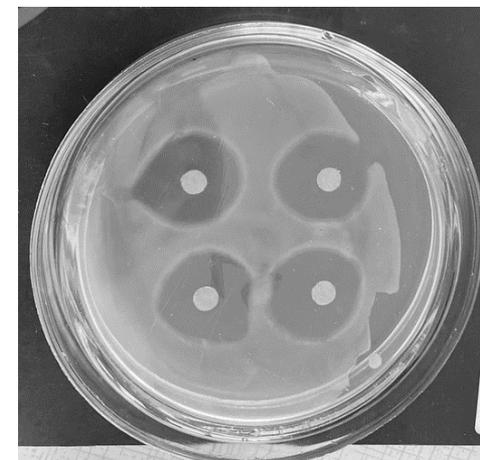
При обработке с напряженностями от $H=0,16 \cdot 10^6$ А/м до $H=0,40 \cdot 10^6$ А/м было зафиксировано увеличение антибактериальной активности на 4-5%.



Исследование антибактериальной активности других бета-лактамных антибиотиков после обработки ИМП



Контроль



$H=0,09 \cdot 10^6$ А/м, $f=40$ кГц, $n=1$

Рисунок - 32 Диаметры зон подавления роста *E. coli* при воздействии ИМП на порошкообразный аптечный амоксициллин, $p < 0,05$

Воздействие ИМП на аптечный препарат амоксициллина при напряженностях ИМП $H=0,09 \cdot 10^6$ А/м, $H=0,82 \cdot 10^6$ А/м при количестве импульсов $n=1$ с частотой $f=40$ кГц способствует достоверному увеличению антибактериальной активности на 7 и 11 % соответственно.



Механизм (причины) повышения антибактериальной активности облученного ИМП бензилпенициллина натриевой соли

Конформационное преобразование молекулы антибиотика после обработки ИМП

Под воздействием ИМП молекула препарата переходит в возбужденное состояние. В условиях дополнительного энергетического влияния ИМП происходит изменение электронной структуры молекулы при переходе из основного в возбужденное состояние, что приводит к изменению геометрии (конформации) и энергетики молекулы антибиотика. Это неизбежно усиливает эффективность антибактериального действия.

Изменения валентных углов амидной группировки близ β -лактамного кольца после воздействия ИМП могут вызвать незначительные преобразования в структурной конформации молекулы бензилпенициллина натриевой соли и способствовать увеличению сродства к активному центру фермента, тем самым повышая антибактериальную активность препарата.

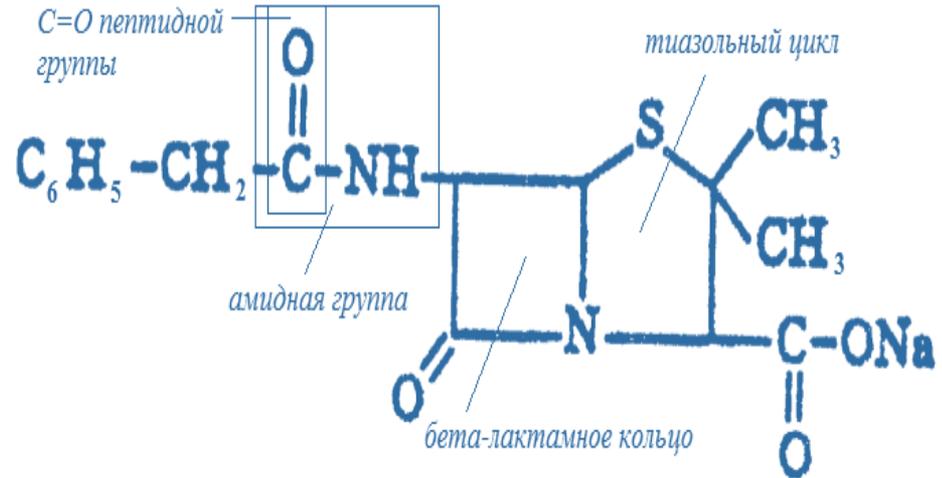


Рисунок 33 – Структурная формула бензилпенициллина натриевой соли





Выводы

1. Показано достоверное увеличение диаметров зон подавления роста *Escherichia coli* (*E. coli*) по сравнению с контролем на 12-24% при воздействии ИМП на аптечный порошок бензилпенициллина натриевой соли ИМП с напряженностями от $H=(0,09 \cdot 10^6 \text{ A/m} \div 1,23 \cdot 10^6 \text{ A/m})$ при количестве импульсов $n=1$ и частотой $f = 40 \text{ кГц}$.

2. Показано достоверное увеличение диаметров зон подавления роста *E. coli* по сравнению с контролем на 18-31% при воздействии ИМП на импортный каталожный препарат бензилпенициллина натриевой соли в порошкообразном виде с напряженностями $H=(0,09 \cdot 10^6 \text{ A/m} \div 0,82 \cdot 10^6 \text{ A/m})$ при количестве импульсов $n=1$ и частотой $f = 40 \text{ кГц}$.

3. Получено достоверное снижение диаметров зон подавления роста *E. coli* по сравнению с контролем при воздействии ИМП на аптечный раствор бензилпенициллина натриевой соли с напряженностями $H=0,20 \cdot 10^6 \text{ A/m}$, $H=0,65 \cdot 10^6 \text{ A/m}$, $H=1,02 \cdot 10^6 \text{ A/m}$ при количестве импульсов $n=1$ и $H=7,65 \cdot 10^6 \text{ A/m}$, $H=13,38 \cdot 10^6 \text{ A/m}$, $H=17,2 \cdot 10^6 \text{ A/m}$ при количестве импульсов $n=3$ с одновитковым индуктором ($f=40 \text{ кГц}$), многовитковым индуктором ($f = 10 \text{ кГц}$).

4. Эффект после действия ИМП на порошкообразную аптечную бензилпенициллина натриевую соль при низких напряженностях $H=0,09 \cdot 10^6 \text{ A/m}$ и $H=0,25 \cdot 10^6 \text{ A/m}$ при количестве импульсов $n=1$ с частотой $f=40 \text{ кГц}$ сохраняет эффект возрастания антибактериальной активности до 3 ч. При увеличении времени хранения обработанного ИМП аптечного порошка бензилпенициллина натриевой соли до 1 суток возрастание антибактериальной активности антибиотика сохраняется только в условиях его обработки с напряженностями $H=0,50 \cdot 10^6 \text{ A/m}$ и $H=0,82 \cdot 10^6 \text{ A/m}$ при количестве импульсов $n=1$ при частоте $f = 40 \text{ кГц}$.



Выводы

5. Теплового и акустического эффекта при воздействии ИМП на бензилпенициллина натриевую соль не обнаружено.
6. Обработка ИМП бензилпенициллина натриевой соли не приводит к изменению острой токсичности.
7. Доказано, что обработка ИМП антибиотика не способствует образованию свободных радикалов методами хемилюминесценции и электронного парамагнитного резонанса.
8. Данные ЯМР-спектроскопии и ИК-Фурье спектроскопии чистого (импортный каталожный лекарственный препарат) и аптечного бензилпенициллина натриевой соли свидетельствуют об идентичности структуры антибиотика.
9. Методом ЯМР-спектроскопии не выявлено изменений в структуре молекулы бензилпенициллина натриевой соли после обработки ИМП.
10. Результаты по ИК-Фурье спектроскопии и УФ-спектроскопии спектроскопии показали конформационные изменения, происходящие с молекулой бензилпенициллина натриевой солью после воздействия ИМП.



Выводы

11. Антибактериальная активность порошкообразного аптечного цефтриаксона натрия в отношении *E. coli* при параметрах воздействия ИМП с напряженностями $H = 0,50 \cdot 10^6$ А/м и $H = 0,82 \cdot 10^6$ А/м при количестве импульсов $n=1$ и частотой $f = 40$ кГц достоверно уменьшается антибактериальная активность на 16% и 29% соответственно. Антибактериальная активность порошкообразного аптечного цефтриаксона натрия в отношении *E. coli* при параметрах ИМП с напряженностью $H = 0,16 \cdot 10^6$ А/м и с напряженностью $H = 0,40 \cdot 10^6$ А/м достоверно увеличивается антибактериальная активность на 4% и 5% соответственно.

12. Воздействие ИМП на аптечный препарат амоксициллина при напряженностях ИМП $H = 0,09 \cdot 10^6$ А/м, $H = 0,82 \cdot 10^6$ А/м при количестве импульсов $n=1$ с частотой $f = 40$ кГц способствует достоверному увеличению антибактериальной активности на 7 и 11 % соответственно

13. Изучение биологической активности порошкообразного аптечного бензилпенициллина натриевой соли после обработки ИМП с напряженностями $H = 0,09 \cdot 10^6$ А/м, $H = 0,50 \cdot 10^6$ А/м и $H = 0,82 \cdot 10^6$ А/м, числом импульсов $n=1$ и частотой $f = 40$ кГц в отношении грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* не способствовало изменению антибактериальной активности антибиотика. Однако исследование порошкообразного аптечного бензилпенициллина натриевой соли после обработки ИМП в отношении грамположительных бактерий *Micrococcus luteus* при тех же параметрах обработки способствовала увеличению биологической активности при напряженностях $H = 0,09 \cdot 10^6$ А/м и $H = 0,50 \cdot 10^6$ А/м на 11 и 13 % соответственно.



САМАРСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
SAMARA UNIVERSITY

Спасибо за внимание!

ул. Московское шоссе, д. 34, г. Самара, 443086
Тел.: +7 (846) 335-18-26 , факс: +7 (846) 335-18-36
Сайт: www.ssau.ru, e-mail: ssau@ssau.ru