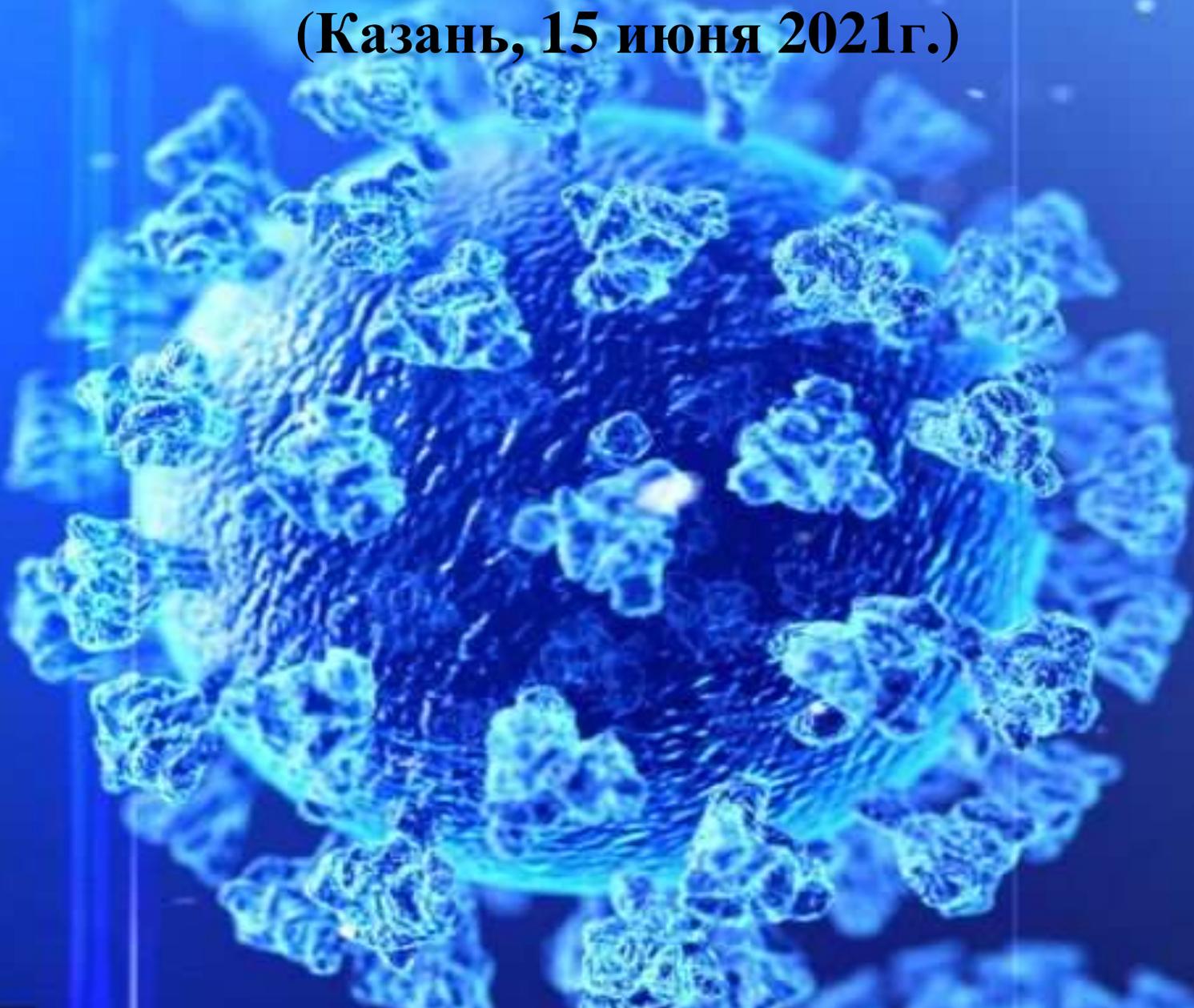


Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Казанский Государственный Медицинский
Университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации

**Материалы IX Всероссийской заочной
научно-практической конференции с
международным участием
«Микробиология в современной
медицине»
(Казань, 15 июня 2021г.)**



Материалы IX Всероссийской заочной
научно-практической конференции с
международным участием
**«Микробиология в
современной медицине»**

Abstracts of the IX Russian Correspondence Scientific and
Practical Conference with international participation
"Microbiology in modern medicine"
(Kazan, 15 June 2021)

Казань, 15 июня 2021 г.

УДК 579.61

ББК 52.6

авторский знак М34

Организаторы IX Всероссийской заочной научно-практической конференции с международным участием «Микробиология в современной медицине»
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский Государственный Медицинский Университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Федеральное бюджетное учреждение науки «Казанский научноисследовательский институт эпидемиологии и микробиологии»
Роспотребнадзора РФ

Г.Ш. Исаева - д.м.н., заведующий кафедрой микробиологии имени академика В.М. Аристовского Казанского государственного медицинского университета, зам. директора по инновационному развитию ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора

А.Н. Савинова - к.б.н., доцент кафедры микробиологии имени академика В.М. Аристовского Казанского государственного медицинского университета

Л.Т. Баязитова - к.м.н., доцент кафедры микробиологии имени академика В.М. Аристовского Казанского государственного медицинского университета, заведующий лабораторией микробиологии, ведущий научный сотрудник ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора

С.А. Лисовская - к.б.н., доцент кафедры микробиологии имени академика В.М. Аристовского Казанского государственного медицинского университета, ведущий научный сотрудник лаборатории микологии ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора

П.Е. Гуляев - ассистент кафедры микробиологии имени академика В.М. Аристовского Казанского государственного медицинского университета.

Микробиология в современной медицине: сборник тезисов IX Всероссийской заочной научно-практической конференции с международным участием – Казань: КГМУ КНИИЭМ, 2021– 139с.

СОДЕРЖАНИЕ

ПРИВЕТСТВЕННОЕ СЛОВО.....	13
<i>Simeonova I., Petrova Sv., Mladenova I.</i>	18
ACUTE FLACCID PARALYSIS REGISTERED FOR THE PERIOD 2012-2020, IN STARA ZOGORA REGION, BULGARIA	
<i>R. Pellicano</i>	18
CLINICAL IMPACT OF <i>Helicobacter pylori</i> INFECTION: 2021 UPDATE	
<i>Агафонова Е.В., Решетникова И.Д., Исаева Г.Ш., Тюрин Ю.А.</i>	23
МУКОЗАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ У РЕКОНВАЛЕСЦЕНТОВ COVID-19	
<i>Агафонова Е.В., Исаева Р.А., Исаева Г.Ш.....</i>	26
ЦИТОКИНЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ГАСТРОДУОДЕНИТАХ, АССОЦИИРОВАННЫХ С <i>HELICOBACTER PYLORI</i>	
<i>Агафонова Е.В., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Горшунова Н.А., Сафина Л.Ф., Смирнова Л.Р., Шарифуллина А.А., Владимирова Д.И.....</i>	30
ПАТОГЕНЫ КАК ФАКТОРЫ РЕАЛИЗАЦИИ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ	
<i>Аношко О.Н., Лапо Т.П., Кищенко Е.Н., Сивец Н.В., Шмелёва Н.П.....</i>	33
ДОЗОРНОЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ СЛЕЖЕНИЕ ЗА ГРИППОМ В УСЛОВИЯХ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ИНФЕКЦИИ COVID–19 В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ В 2020–2021ГГ	
<i>Баязитова Л.Т., Тюпкина О.Ф., Чазова Т.А., Тюрин Ю.А., Исаева Г.Ш.....</i>	35
СЕКРЕЦИЯ IGA ПРОТЕИНАЗ НАЗОФАРИНГЕАЛЬНЫМИ ПНЕВМОКОККАМИ	
<i>Баязитова Л.Т., Тюпкина О.Ф., Чазова Т.А., Анамов Р.И., Калимуллина А.Д.....</i>	39
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ НЕИНВАЗИВНЫХ ПНЕВМОКОККОВ К ФАГОВЫМ ПРЕПАРАТАМ	
<i>Бржозовская Е.А., Алябьева Н.М., Лазарева А.В., Маянский Н.А.</i>	42
ПРОФИЛЬ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ И ГЕНОТИПЫ НЕВАКЦИННЫХ СЕРОТИПОВ <i>STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE</i> С МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ, ВЫДЕЛЕННЫХ В РОССИИ, 2010 - 2017	
<i>Бруслик Н.Л., Салахутдинова А.И., Яруллина Д.Р.....</i>	44
ВЛИЯНИЕ ИОНОВ ЖЕЛЕЗА НА РОСТ И ФОРМИРОВАНИЕ БИОПЛЕНОК БАКТЕРИЯМИ РОДА <i>LACTOBACILLUS</i>	
<i>Валиева Р.И., Лисовская С.А.</i>	46

СПОСОБНОСТЬ К ФОРМИРОВАНИЮ БИОПЛЕНОК У РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ ГРИБОВ РОДА *FUSARIUM*

Гоптарева, Е.А., Базиков И.А., Зеленский В.А...... 48

РЕЗУЛЬТАТЫ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ЛЕЧЕНИЯ ПРИ СОЧЕТАННОМ ПРИМЕНЕНИИ НИСОМАЛЬНЫХ ЭНДОГЕННЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ И ФОТОТЕРАПИИ НА МИКРОБНУЮ ПЛЁНКУ ПАРОДОНТА

Депсинов Р.И., Абдульмянова Л.И. 52

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭНДОФИТНЫХ ГРИБОВ *ALOE VERA*

Зорина В.А., Кибешева Э.И., Аккузина С.Г...... 54

МИКРОБИОЛОГИЯ И АНТИМИКРОБНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ЧАЙНОГО ГРИБА (*Medusomyces gisevi*)

Колеватых Е.П. 56

РАЗРАБОТКА НЕИНВАЗИВНОГО МЕТОДА ВЫЯВЛЕНИЯ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ НЕПЕРЕНОСИМОСТИ СЫВОРОТКИ КОРОВЬЕГО МОЛОКА У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА

Куликов С.Н., Хайруллин Р.З...... 59

ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ ХИТОЗАНОВОГО ПОЛИМЕРА НА ЕГО БИОЦИДНУЮ АКТИВНОСТЬ

Куликов С.Н., Бруслик Н.Л. 63

МЕХАНИЗМ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ ХИТОЗАНА

Куликов С.Н., Тюрин Ю.А...... 68

МЕХАНИЗМ АНТИМИКОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ХИТОЗАНА

Лисовская С.А., Валиева Р.И. 72

БИОПЛЕНКИ СМЕШАННЫХ МИКРОБИОЦЕНОЗОВ БИОТОПА РОТОГЛОТКИ ЧЕЛОВЕКА: КОНЦЕПЦИЯ СИНЕРГИЗМА СПАРЕННЫХ СИМБИОТИЧЕСКИХ КОМПАРТМЕНТОВ

Маматмусаева Ф.Ш. 75

БИОХИМИЧЕСКОЙ СОСТАВ ЖЕЛЧИ У ДЕТЕЙ РЕКОНВАЛЕСЦЕНТОВ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА «А»

Михайлова Л. В., Жолобова Н. Е., Аккузина С.Г...... 77

ВЛИЯНИЕ ТЕРМОУСТОЙЧИВЫХ РАС ХЛЕБОПЕКАРНЫХ ДРОЖЖЕЙ НА АУТОХТОННУЮ МИКРОФЛОРУ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ

Мухаммадиев Б.К., Курбанмуратов Ф.Б...... 79

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ В ПОЧВЕ

<i>Петрова Л.В., Петров И.В., Фазылов В.Х., Петрова Ф.С., Амирова Т.Х., Севастьянова Э.В.</i>	81
ИДЕНТИФИКАЦИЯ НЕТУБЕРКУЛЕЗНЫХ МИКОБАКТЕРИЙ СРЕДИ ПАЦИЕНТОВ С ВИЧ-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ СТАТУСОМ В РЕСПУБЛИКЕ МАРИЙ ЭЛ	
<i>Решетникова И.Д., Агафонова Е.В., Хакимов Н.М., Исаева Г.Ш., Зиатдинов В.Б.</i> ..	84
ИЗУЧЕНИЕ НАПРЯЖЕННОСТИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА К SARS-COV-2 У МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ В ДИНАМИКЕ ВОСЬМИ МЕСЯЧНОГО НАБЛЮДЕНИЯ	
<i>Решетникова И.Д., Агафонова Е.В., Тюрин Ю.А., Куликов С.Н., Исаева Г.Ш., Зиатдинов В.Б.</i>	85
ИЗУЧЕНИЕ СЕРОПРЕВАЛЕНТНОСТИ К ВИРУСУ SARS-COV-2 СРЕДИ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ	
<i>Рубайло М.В., Базиков И.А. Мальцев А.Н., Седых О.И.</i>	87
РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ВЫДЕЛЕНИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИМИКРОБНОГО БЕТА 1 ДЕФЕНЗИНА ИЗ ПЛАЦЕНТАРНОЙ ТКАНИ	
<i>Савинова А.Н.</i>	91
ВЫЯВЛЕНИЕ JMTV ВИРУСОВ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ	
<i>Савинова А.Н., Соловьева К.В.</i>	92
МОНИТОРИНГ ПРОВЕДЕНИЯ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ COVID-19 В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН	
<i>Савинова А.Н.</i>	95
БОРДЕТЕЛЛЫ - ВОЗБУДИТЕЛИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА	
<i>Савинова А.Н.</i>	96
МУКОРМИКОЗ У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19	
<i>Савицкая Т.А., Давидюк Ю.Н., Шамсутдинов А.Ф., Сулейманова С., Кабве Э., Трифонов В.А., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Шакирова В.Г., Ризванов А.А., Хайбуллина С.Ф.</i>	98
ВАРИАНТЫ ГЕНОМА ШТАММОВ <i>PUUMALA ORTHONANTAVIRUS</i> , ВЫЯВЛЕННЫЕ У БОЛЬНЫХ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКОЙ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН	
<i>Савицкая Т.А., Трифонов В.А., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Сафиуллина Г.Ш., Гайнуллин А.А.</i>	103
ИНФИЦИРОВАННОСТЬ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ХАНТАВИРУСАМИ В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН ЗА ПЕРИОД 2012-2020ГГ	

<i>Савицкая Т.А., Трифонов В.А., Тюрин Ю.А., Агафонова Е.В., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д.</i>	106
СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО БОРРЕЛИОЗУ В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН	
<i>Соковнина С.В.</i>	107
МИКРОФЛОРА КОЖИ У БОЛЬНЫХ С ГАСТРОПАТОЛОГИЕЙ	
<i>Тюрин Ю.А., Утяганова Ю. О., Исаева Г.Ш.</i>	109
ИЗУЧЕНИЕ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ К ЭКЗОТОКСИНУ SSL7 <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> У ПАЦИЕНТОВ С АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ X	
<i>Тюрин Ю.А., Исаева Г.Ш.</i>	111
МЕТОДИКА ОТБОРА ШТАММОВ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛИПОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ <i>STAPHYLOCOCCUS SPP.</i> , ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ СОСТАВА МИКРОБИОТЫ КОЖИ И СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯ	
<i>Фазылов В.Х., Еремеева Ж.Г.</i>	115
ПАРЕНТЕРАЛЬНЫЕ ГЕПАТИТЫ В, С И АВАРИЙНЫЕ СИТУАЦИИ	
<i>Фазылов В.Х., Манапова Э.Р., Бешимов А.Т., Акифьев В.О.</i>	118
КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВТОРИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ В УСЛОВИЯХ ПРОФИЛЬНОЙ ГОСПИТАЛИЗАЦИИ	
<i>Файзуллаева З. Р., Сейфуллаева Б.С.</i>	121
АССОЦИАЦИЯ РАКА ЖЕЛУДКА С ОНКОГЕННЫМИ ВИРУСАМИ ЧЕЛОВЕКА ЭПШТЕЙНА-БАРРА	
<i>Халдеева Е.В., Лисовская С.А., Глушко Н.И.</i>	124
АНАЛИЗ ВИДОВОГО СОСТАВА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОНИХОМИКОЗОВ КИСТЕЙ И СТОП У ДЕТЕЙ	
<i>Шамина О.В., Алябьева Н.М., Лазарева А.В., Маянский Н.А.</i>	127
МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ И МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ К КОЛИСТИНУ КАРБАПЕНЕМРЕЗИСТЕНТНЫХ <i>KLEBSIELLA PNEUMONIAE</i> : НОВЫЙ МИНИАТЮРНЫЙ МОБИЛЬНЫЙ ЭЛЕМЕНТ С ИНВЕРТИРОВАННЫМИ ПОВТОРАМИ MITEKPN1	
<i>Янович О.О., Титов Л.П.</i>	129
ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНОВ КАРБАПЕНЕМАЗ В ПОПУЛЯЦИИ ФЕНОТИПИЧЕСКИ МНОЖЕСТВЕННО-РЕЗИСТЕНТНЫХ <i>A. BAUMANNII</i> , ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ ОТДЕЛЕНИЙ РЕАНИМАЦИИ И ХИРУРГИИ	

Ярец Ю.И. 132
АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА И ПЕРСИСТЕНТНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ КЛИНИЧЕСКИХ
ИЗОЛЯТОВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАНЕВОГО
ОТДЕЛЯЕМОГО ПАЦИЕНТОВ С ЛОКАЛЬНЫМИ И ОБШИРНЫМИ РАНАМИ

**Яруллина Д.Р., Арзамасцева А.А., Александрова А.Ю., Новоселова В.А., Маркелова
М.И., Яковлева О.В., Григорьева Т.В., Ситдикова Г.Ф. 136**
КИШЕЧНАЯ МИКРОБИОТА МЫШЕЙ ПРИ ПОСТИНФЕКЦИОННОЙ МОДЕЛИ
СИНДРОМА РАЗДРАЖЕННОГО КИШЕЧНИКА

CONTENT

GREETING.....	15
<i>Simeonova I., Petrova Sv., Mladenova I.</i>	18
ACUTE FLACCID PARALYSIS REGISTERED FOR THE PERIOD 2012-2020, IN STARA ZOGORA REGION, BULGARIA	
<i>Pellicano R.....</i>	18
CLINICAL IMPACT OF <i>Helicobacter pylori</i> INFECTION: 2021 UPDATE	
<i>Agafonova E.V., Reshetnikova I.D., Isaeva G.Sh., Tyurin Yu.A.....</i>	23
MUCOSAL IMMUNITY FOR RECONVALESCENTS COVID-19	
<i>Agafonova E.V., Isaeva R.A , Isaeva G.Sh.</i>	26
CYTOKINES IN CHRONIC GASTRODUODENITIS ASSOCIATED WITH HELICOBACTER PYLORI	
<i>Agafonova E.V., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D., Gorshunova N.A., Safina L.F., Smirnova L.R., Sharifullina A.A., Vladimirova D.I.</i>	30
PATHOGENS AS FACTORS OF REALIZATION OF ALLERGIC PATHOLOGY UNDER MODERN CONDITIONS	
<i>Anoshko O.N., Lapo T.P., Kishchenko E.N., Sivets N.V., Shmeleva N.....</i>	33
SENTRY EPIDEMIOLOGICAL TRACKING FOR INFLUENZA UNDER THE SPREAD OF COVID-19 INFECTION IN THE REPUBLIC OF BELARUS IN 2020–2021	
<i>Bayazitova L.T., Tyupkina O.F., Chazova T.A., Tyurin Yu.A., Isaeva G.Sh.....</i>	35
SECRETION OF IGA PROTEINASES BY NASOPHARYNGEAL PNEUMOCOCCUS	
<i>Bayazitova L.T., Tyupkina O.F., Chazova T.A., Anamov R.I., Kalimullina A.D.</i>	39
COMPARATIVE ANALYSIS OF SENSITIVITY OF NON-INVASIVE PNEUMOCOCCUS TO PHAGE DRUGS	
<i>Brzhozovskaya E.A., Alyabyeva N.M., Lazareva A.V., Mayansky N.A.</i>	42
ANTIBIOTIC RESISTANCE PROFILE AND GENOTYPES OF NONVACCINAL STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE SEROTYPES WITH MULTIPLE DRUG RESISTANCE, ISOLATED IN RUSSIA, 2010 – 2017	
<i>Bruslik N.L., Salakhutdinova A.I., Yarullina D.R.....</i>	44
INFLUENCE OF IRON IONS ON THE GROWTH AND FORMATION OF BIOFILMS BY BACTERIA OF THE GENUS LACTOBACILLUS	
<i>Valieva R.I., Lisovskaya S.A.</i>	46
CAPACITY TO FORMATION OF BIOFILMS IN DIFFERENT STRAINS OF FUNGI OF THE GENUS FUSARIUM	

<i>Goptareva E.A., Bazikov I.A., Zelensky V.A.</i>	48
RESULTS OF RECOVERY TREATMENT WITH THE COMBINED APPLICATION OF NIOSOMAL ENDOGENIC ANTIMICROBIAL PEPTIDES AND PHOTOTHERAPY ON THE MICROBIAL FILM OF THE PERIODONT	
<i>Depsinov R.I., Abdul'myanova L.I.</i>	52
ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ENDOPHYTIC FUNGI ALOE VERA	
<i>Zorina V.A., Kibesheva E.I., Akkuzina S.G.</i>	54
MICROBIOLOGY AND ANTIMICROBIAL POTENTIAL OF TEA MUSHROOM	
E.P. Kolevatykh	56
DEVELOPMENT OF A NON-INVASIVE METHOD FOR DETECTING THE INDIVIDUAL INTOLERANCE OF COW'S MILK SERUM IN YOUNG CHILDREN	
<i>Kulikov S.N., Khairullin R.Z.</i>	59
INFLUENCE OF THE STRUCTURE OF A CHITOSAN POLYMER ON ITS BIOCIDAL ACTIVITY	
Kulikov S.N., Bruslik N.L.	63
MECHANISM OF ANTIBACTERIAL ACTION OF CHITOSAN	
<i>Kulikov S.N., Tyurin Yu.A.</i>	68
MECHANISM <i>OF ANTIMICOTIC ACTION OF</i> CHITOSAN	
<i>Lisovskaya S.A., Valieva R.I.</i>	72
BIOFILMS OF MIXED MICROBIOCENOSSES OF THE HUMAN OROTOPHARAL BIOTOPE: THE CONCEPT OF SYNERGISM OF PAIRED SYMBIOTIC COMPARTMENTS	
<i>Mamatmusaeva F. Sh.</i>	75
BIOCHEMICAL COMPOSITION OF BILD IN CHILDREN WITH RECONVALESCENTS OF VIRAL HEPATITIS "A"	
<i>Mikhailova L.V., Zholobova N.E., Akkuzina S.G.</i>	77
INFLUENCE OF HEAT-RESISTANT RACES OF BAKERY YEAST ON AUTOCHTHONIC MICROFLORA OF THE ORAL CAVITY	
<i>Mukhammadiev B.K., Kurbanmuratov F.B.</i>	79
STUDY OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF MYCELIAL FUNGI IN SOIL	
<i>Petrova L.V., Petrov I.V., Fazylov V.Kh., Petrova F.S., Amirova T.Kh., Sevastyanova E.V.</i>	81
IDENTIFICATION OF NON-TUBERCULOSIS MYCOBACTERIA AMONG HIV-POSITIVE PATIENTS IN THE REPUBLIC OF MARIY EL	

<i>Reshetnikova I.D., Agafonova E.V., Khakimov N.M., Isaeva G.Sh., Ziatdinov V.B.</i>	84
STUDY OF THE STRENGTH OF THE HUMORAL IMMUNE RESPONSE TO SARS-COV-2 IN MEDICAL WORKERS IN THE DYNAMICS OF EIGHT MONTHS OF OBSERVATION	
<i>Reshetnikova I.D., Agafonova E.V., Tyurin Yu.A., Kulikov S.N., Isaeva G.Sh., Ziatdinov V.B.</i>	85
STUDY OF SEROPROVALENCE TO SARS-COV-2 VIRUS AMONG MEDICAL PROFESSIONALS	
<i>Rubailo M.V., Bazikov I.A. Maltsev A.N., Sedykh O.I.</i>	87
DEVELOPMENT OF METHODS FOR ISOLATION AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL BETA 1 DEFENSIN FROM PLACENTAL TISSUE	
<i>Savinova A. N.</i>	91
IDENTIFICATION OF JMTV VIRUSES IN THE RUSSIAN FEDERATION	
<i>Savinova A.N., Solovieva K.V.</i>	93
COVID-19 VACCINATION MONITORING IN THE REPUBLIC OF TATARSTAN	
<i>Savinova A. N.</i>	95
BORDETELLA – CAUSATIVE AGENTS OF INFECTIOUS DISEASES OF HUMAN	
<i>Savinova A. N.</i>	96
MUCORMYCOSIS IN PATIENTS WITH COVID-19	
<i>Savitskaya T.A., Davidyuk Yu.N., Shamsutdinov A.F., Suleimanova S., Kabwe E., Trifonov V. A., Isaeva G. Sh., Reshetnikova I.D., Shakirova V.G., Rizvanov A.A., Khaibullina S.F.</i>	98
VARIANTS OF THE GENOME OF PUUMALA ORTHOHANTAVIRUS STRAINS DETECTED IN PATIENTS WITH HEMORRHAGIC FEVER WITH RENAL SYNDROME IN THE REPUBLIC OF TATARSTAN	
<i>Savitskaya T.A., Trifonov V.A., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D., Safiullina G.Sh., Gainullin A.A.</i>	103
INFECTION OF SMALL MAMMALS WITH HANTAVIRUS IN THE REPUBLIC OF TATARSTAN FOR THE PERIOD 2012-2020	
<i>Savitskaya T.A., Trifonov V.A., Tyurin Yu.A., Agafonova E.V., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D.</i>	106
CURRENT STATE OF THE EPIDEMIOLOGICAL SITUATION FOR BORRELIOSIS IN THE REPUBLIC OF TATARSTAN	
<i>Sokovnina S. V.</i>	107
SKIN MICROFLORA IN PATIENTS WITH GASTROPATHOLOGY	

<i>Tyurin Yu.A., Utyaganova Yu.O., Isaeva G.Sh.</i>	109
STUDY OF SENSITIZATION TO EXOTOXIN SSL7 STAPHYLOCOCCUS AUREUS IN PATIENTS WITH ATOPIC DERMATITIS	
<i>Tyurin Yu.A., Isaeva G.Sh.</i>	111
METHOD FOR SELECTING STRAINS AND DETERMINING LIPOLYTIC ACTIVITY OF STAPHYLOCOCCUS SPP. ISOLATED FROM THE COMPOSITION OF SKIN MICROBIOTA AND MUCOSA OF THE UPPER RESPIRATORY TRACT IN ALLERGIC DISEASES	
<i>Fazylov V.Kh., Ereemeeva Zh.G.</i>	115
PARENTERAL HEPATITIS B, C AND EMERGENCY SITUATIONS	
<i>Fazylov V.Kh., Manapova E.R., Beshimov A.T., Akifiev V.O.</i>	118
CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL ANALYSIS OF SECONDARY DISEASES IN HIV-INFECTED PATIENTS IN THE CONTEXT OF SPECIALIZED HOSPITALIZATION	
<i>Faizullaeva Z.R., Seifullaeva B.S.</i>	121
ASSOCIATION OF STOMACH CANCER WITH HUMAN EPSTEIN-BARR ONCOGENIC VIRUSES	
<i>Khaldeeva E.V., Lisovskaya S.A., Glushko N.I.</i>	124
ANALYSIS OF THE SPECIES COMPOSITION OF THE CAUSATIVE AGENTS OF BRUSH AND FOOT ONYCHOMYCOSIS IN CHILDREN	
<i>Shamina O.V., Alyabyeva N.M., Lazareva A.V., Mayansky N.A.</i>	127
MOLECULAR EPIDEMIOLOGY AND MECHANISMS OF RESISTANCE TO COLISTIN CARBAPENEM RESISTANT KLEBSIELLA PNEUMONIAE: NEW MINIATURE MOBILE ELEMENT WITH INVERTED REPEATS MITEKPN1	
<i>Yanovich O.O., Titov L.P.</i>	129
CHARACTERISTICS OF CARBAPENEMASE GENES IN A POPULATION OF PHENOTYPICALLY MULTIPLY-RESISTANT A. BAUMANNII ISSUED FROM PATIENTS IN RESIDUAL AND SURGERY UNITS	
<i>Yarets Yu.I.</i>	132
ADHESIVE PROPERTIES AND PERSISTENT POTENTIAL OF CLINICAL ISOLATES STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLATED FROM WOUND SEPARATES OF PATIENTS WITH LOCAL AND LARGE WOUNDS	
<i>Yarullina D.R., Arzamastseva A.A., Aleksandrova A.Yu., Novoselova V.A., Markelova M.I., Yakovleva O.V., Grigorieva T.V., Sitdikova G.F.</i>	136
INTESTINAL MICROBIOTA OF MICE IN POST-INFECTIOUS MODEL OF IRRITATED INTESTINAL SYNDROME	

ПРИВЕТСТВЕННОЕ СЛОВО

Уважаемые участники конференции! Уважаемые коллеги!

Разрешите приветствовать вас на девятой ежегодной Всероссийской заочной конференции с международным участием «Микробиология в современной медицине», организатором которой традиционно выступает кафедра микробиологии имени академика В.М. Аристовского ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», и в пятый раз соорганизатором становится ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии».

Заочный формат проведения нашей конференции остается актуальным в период продолжающейся пандемии COVID-19. Но если в начале 2020 года мы еще не располагали достаточной информацией о возбудителе, то в 2021 году мы имеем в своем арсенале для борьбы с этой инфекцией необходимые микробиологические диагностические алгоритмы для проведения лабораторных исследований, включающие молекулярно-биологические, серологические, иммунохроматографические методы; средства специфической профилактики и противовирусной терапии, что еще раз доказывает значимость микробиологии как фундаментальной науки, имеющей важное прикладное значение.

Знаковым событием 2021 года – года Науки и технологий - стало подписание четырехстороннего соглашения о создании Консорциума между Казанским НИИ эпидемиологии и микробиологии, Казанским государственным медицинским университетом, Республиканской клинической больницей и ООО «МедФармПолис». В рамках Соглашения стороны примут участие в создании благоприятных условий для привлечения и карьерного роста молодых научных работников и профессорско-преподавательского состава, разработке и реализации совместных основных и дополнительных образовательных программ различного уровня и организации международных и российских конференций, семинаров, молодежных школ, тренингов и других научных мероприятий. Дополнительно будет создано и обеспечено взаимодействие интегрированных инфраструктурных подразделений научного, образовательного и инновационного профилей (базовая кафедра, ресурсные центры коллективного пользования, научные лаборатории, проектные офисы, бизнес-инкубаторы, технопарки и инжиниринговые центры), проведение совместных поисковых и прикладных научных исследований и разработок в областях медицинской микробиологии и биохимии, фундаментальной, клинической и профилактической медицины, публикации результатов совместных исследований в реферируемых российских и зарубежных изданиях.

Соглашение будет способствовать дальнейшему развитию научно-образовательного потенциала Республики Татарстан и определять порядок взаимодействия сторон по решению приоритетных задач в целях повышения качества и конкурентоспособности научных исследований и профессионального медицинского образования, мобилизации материальных и интеллектуальных ресурсов в целях развития

долгосрочного взаимовыгодного сотрудничества путем объединения интеллектуальных, финансовых, материально-технических, информационных и иных ресурсов сторон в области проведения совместных научно-технических исследований и инновационных разработок, разработки и реализации совместных образовательных программ, развития совместной научно-образовательной инфраструктуры Республики Татарстан. Одним из ведущих участников Консорциума является кафедра микробиологии имени академика В.М. Аристовского, коллектив кафедры выражает уверенность в том, что реализация инновационных идей и проектов придаст новый импульс ее развитию.

В 2021 году впервые в истории Казанского государственного медицинского университета кафедра микробиологии имени академика В.М. Аристовского получила лицензию по подготовке кадров высшей квалификации по программе ординатуры 32.08.14. - Бактериология. Также 2020-21 учебный год ознаменовался и другими приятными событиями, которые мотивируют коллектив кафедры на новые трудовые свершения: награждение коллектива дипломом I степени за лучшее учебно – методическое пособие за 2019-2020 и 2020-2021 учебные годы; победы наших студентов на Олимпиадах по микробиологии и студенческих научных форумах (Международная online олимпиада студентов медицинских вузов «Медицина шёлкового пути XXI века: современный вектор развития», организатором являлся Ташкентский государственный стоматологический институт г.Ташкент, Республика Узбекистан; исторической конференции в рамках Международного молодежного форума «Белые цветы» (Казань), конференции «Взгляд молодого ученого на современные проблемы медицинской микробиологии» (г. Оренбург), Международного учебно-исследовательского конкурса «Студент года» (г. Петрозаводск)) и др.

Десятки специалистов в области здравоохранения и науки из различных субъектов Российской Федерации, стран ближнего и дальнего зарубежья предоставили результаты своих научных исследований в виде докладов в сборнике научных трудов. В них нашли отражение широкий спектр передовых достижений в области микробиологии и смежных дисциплин. Оргкомитет конференции искренне надеется, что материалы сборника будут востребованы специалистами различного профиля: врачами- клиницистами, микробиологами, эпидемиологами, гигиенистами, преподавателями медицинских вузов, научными сотрудниками, студентами, аспирантами и ординаторами.

Разрешите поблагодарить всех участников IX Всероссийской заочной научно-практической конференции «Микробиология в современной медицине». До новой встречи на X юбилейной конференции!

Заведующий кафедрой микробиологии
имени академика В.М. Аристовского,
зам. директора ФБУН КНИИЭМ, д.м.н.

Г.Ш. Исаева

GREETING

Dear conference participants! Dear Colleagues!

Let me welcome you to the ninth regular All-Russian correspondence conference with international participation "Microbiology in modern medicine", which is traditionally organized by the Department of Microbiology named after Academician V.M. Aristovsky FSBEI HE "Kazan State Medical University", and for the fifth time the FBIS "Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology" becomes a co-organizer.

The correspondence format of our conference remains relevant during the ongoing COVID-19 pandemic. But if at the beginning of 2020 we did not yet have sufficient information about the pathogen, then in 2021 we have in our arsenal to fight this infection the necessary microbiological diagnostic algorithms for laboratory studies, including molecular biological, serological, immunochromatographic methods; methods of specific prophylaxis and antiviral therapy, which once again proves the importance of microbiology as a fundamental science of great applied importance.

A landmark event in 2021 - the year of Science and Technology - was the signing of a quadripartite agreement on the creation of a Consortium between Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Kazan State Medical University, Republican Clinical Hospital and MedPharmPolis LLC. Under this agreement, the parties will take part in creating favorable conditions for the attraction and career growth of young researchers and teaching staff, the development and implementation of joint basic and additional educational programs at various levels and the organization of international and Russian conferences, seminars, youth schools, trainings and others scientific events. Additionally, the interaction of integrated infrastructural units of scientific, educational and innovative profiles will be created and ensured (base department, resource centers for collective use, scientific laboratories, project offices, business incubators, technology parks and engineering centers), joint search and applied research and development in fields of medical microbiology and biochemistry, fundamental, clinical and preventive medicine, publication of the results of joint research in refereed Russian and foreign publications.

The agreement will contribute to the further development of the scientific and educational potential of the Republic of Tatarstan and determine the procedure for interaction between the parties to address priority tasks in order to improve the quality and competitiveness of scientific research and professional medical education, mobilize material and intellectual resources in order to develop long-term mutually beneficial cooperation by combining intellectual, financial, material, technical, informational and other resources of the parties in the field of joint scientific and technical research and innovative developments, development and implementation of joint educational programs, development of joint scientific and educational infrastructure of the Republic of Tatarstan. One of the leading members of the Consortium is the Department of Microbiology named after Academician V.M. Aristovsky, the staff of the department expresses confidence that the implementation of innovative ideas and projects will give a new impetus to its development.

In 2021, for the first time in the history of Kazan State Medical University, the Department of Microbiology named after Academician V.M. Aristovsky received a license to train highly qualified personnel under the residency program on 08/32/14. - Bacteriology. Also, the 2020-21 academic year was marked by other pleasant events that motivate the staff of the department for new labor achievements: rewarding the team with a 1st degree diploma for the best teaching aid for the 2019-2020 and 2020-2021 academic years; victories of our students at Olympiads in microbiology and student scientific forums (International online Olympiad for students of medical universities "Medicine of the Silk Road of the XXI century: modern vector of development", the organizer was the Tashkent State Dental Institute in Tashkent, Republic of Uzbekistan; a historical conference within the framework of the International Youth Forum "White Flowers" (Kazan), conferences "A young scientist's view on modern problems of medical microbiology" (Orenburg), International educational and research competition "Student of the Year" (Petrozavodsk)), etc.

Dozens of specialists in the field of health care and science from various constituent entities of the Russian Federation, countries of the near and far abroad presented the results of their scientific research in the form of reports in a collection of scientific papers. They reflect a wide range of cutting-edge advances in microbiology and related disciplines. The organizing committee of the conference sincerely hopes that the materials of the collection will be in demand by specialists of various profiles: clinicians, microbiologists, epidemiologists, hygienists, teachers of medical universities, researchers, students, graduate students and residents.

Let me thank all the participants of the IX All-Russian Correspondence Scientific and Practical Conference "Microbiology in Modern Medicine". Let's meet at the X anniversary conference!

Head of the Department of Microbiology
named after academician V.M. Aristovsky,
Deputy Director of FBIS KRIEM, MD

G. Sh. Isaeva



Коллектив кафедры микробиологии имени академика В. М. Аристовского. 2020-2021 учебный год.

The staff of the Department of Microbiology named after Academician V.M. Aristovsky. 2020-2021 academic year.

ACUTE FLACCID PARALYSIS REGISTERED FOR THE PERIOD 2012-2020, IN STARA ZOGORA REGION, BULGARIA

I. Simeonova¹, Sv. Petrova², I. Mladenova¹

ACUTE FLACCID PARALYSIS REGISTERED FOR THE PERIOD 2012-2020, IN STARA ZOGORA REGION, BULGARIA

I. Simeonova¹, Sv. Petrova², I. Mladenova¹

¹ Department of Hygiene, Epidemiology and Infectious Diseases, Faculty of Medicine, Trakia University - Stara Zagora, Bulgaria, ²Regional Health Inspectorate, Stara Zagora

Acute Flaccid Paralysis (AFP) is a clinical syndrome. There are many infectious and non-infectious causes of AFP. The wild polio virus is one of the causes of AFP. As a part of the worldwide campaign to eradicate polio, all countries do surveillance for polio by looking for clinical cases of AFP.

Aim of the study is to describe the cases of Acute Flaccid Paralysis, without Paresis nervi facialis, in the Stara Zagora region for the period 2012-2020.

Methods. A descriptive analysis was performed on the parameters: diagnosis, seasonality, sex, residence, age, clinical data, comorbidities, results of follow-up examinations, polio vaccine administration, timeliness of studies.

Results: There were 9 cases of AFP registered and reported for Stara Zagora region, for the period 2012 – 2020. The children in 3 years old were more affected- 4 patients. About the coverage with polio vaccine: 7 of the patients had 4 doses, 1- had 6 doses, 1 child had 5 doses and + 1 zero dose. 100% of children are covered, according to their age, with IPV. Follow-up in 6 of the patients showed no residual paresis and complications but in 1 of the cases was found. In 2 patients no control examination was performed due to migration.

Conclusion: The correct epidemiological diagnosis is the way to timely and correct clinical diagnosis. AFP Surveillance is of particular importance as well as fecal sampling up to 48 hours, from the onset of paralysis, and follow-up after the 60th day in children <15 years.

CLINICAL IMPACT OF *Helicobacter pylori* INFECTION: 2021 UPDATE

R. Pellicano

CLINICAL IMPACT OF *Helicobacter pylori* INFECTION: 2021 UPDATE

R. Pellicano

The discovery of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), first isolated and cultured by the Australian investigators Warren and Marshall in 1982,¹ has revolutionized the world of medical knowledge, representing an excellent example of translation from microbiology to the clinics.

H. pylori is a micro-aerophilic, Gram-negative spiral bacterium, usually acquired during childhood, whose natural habitat is the luminal surface of the gastric epithelium.² Currently, about 50% of the world's human population is carrier of this microorganism, with a prevalence much higher in developing countries than in developed countries.³

Impact of *H. pylori* infection in gastroduodenal diseases

Gastritis and peptic ulcer disease

H. pylori infection is the most important cause of gastritis and peptic ulcer disease (PUD). From the topographical distribution of gastritis, which is closely linked with acid output, the risk of subsequent PUD can be predicted. In patients with duodenal ulcers (DU), *H. pylori*-induced mucosal inflammation is most pronounced in the gastric antrum and stimulates the release of gastrin.⁴ The hypergastrinemia, in turn, stimulates an excess acid secretion from the acid-secreting mucosa of the proximal stomach (fundus). The increased duodenal acid load induces gastric metaplasia. The metaplastic mucosa can then become colonized by *H. pylori*, which leads to duodenitis and then to the ulcerative process.⁵ Differently, gastric ulcer (GU) is associated with a diffuse or a corpus-predominant gastritis. The last phenotype is associated with low acid output, gastric atrophy and a high risk of adenocarcinoma. Disruption of the mucosal defence, as a result of intense inflammation, is the key mechanism leading to GU in the absence of an increased acid load.⁶

It is well-known that bacterial eradication modifies the natural history of PUD. In fact, DU recurrence occurs in 6% of *H. pylori*-cured patients compared to 67% of non-cured patients, and GU recurrence occurs in 4% of the former group *versus* 59% of the latter.⁷

Dyspepsia

Dyspepsia refers to pain or discomfort, centered in the upper abdomen.⁸ A crucial topic is the accurate identification of patients who require further investigation to rule out organic diseases and those who can safely be treated empirically.⁹ In the clinical setting two contexts should be considered.

In case of uninvestigated dyspepsia, it is possible to apply a test-and-treat strategy. This requires the use of a non-invasive test to assess gastric *pylori* colonization. The rationale is to avoid endoscopy. A test-and-treat strategy is suitable in regions where *H. pylori* prevalence is $\geq 20\%$ and only in patients without alarm symptoms (weight loss, dysphagia, overt gastrointestinal [GI] bleeding, abdominal mass and iron-deficiency anemia).¹⁰

The “umbrella” term functional dyspepsia (FD) includes patients with epigastric pain, epigastric burning, early satiation and postprandial fullness, without endoscopic signs of structural disease. The pathophysiology of FD is multifactorial and poorly understood.⁹ Trials

and meta-analyses have shown that cure of *H. pylori* infection is associated with a small (10%) but significant therapeutic gain compared to placebo. Furthermore, the overall response is much better and more cost-effective in regions with a high *H. pylori* prevalence.³ Nevertheless, to confirm its multifactorial pathogenesis, a report has shown that 4 years after eradication, 55% of patients with FD *versus* 32% ($P < 0.05$) of those with previous PUD, are still using acid-suppressive medications.¹¹

Gastric cancer

Identified as the cause of Napoleon Bonaparte's death, gastric cancer (GC) remains a major global health threat being a leading cause of cancer deaths worldwide.¹² About 89% of non-cardia GCs, that is 78% of GC cases, are attributable to *H. pylori* infection.³ Although the International Agency for Research on Cancer classified *H. pylori* as a definite cause of GC (group I carcinogen), to date the bacterium is recognized as a necessary but insufficient cause of such malignancy. This is due to the fact that GC is a complex, multistep disease caused by initiators and other continuator agents.³

H. pylori promotes gastric carcinogenesis via multiple mechanisms. The bacterium causes chronic gastric inflammation, in particular corpus-predominant gastritis, that may progress with an evolution toward atrophic gastritis, premalignant gastric lesions and GC.¹³ Furthermore, *H. pylori* infection may contribute to gastric mucosal genetic instability by hypochlorhydria,¹⁴ which can promote the growth of a gastric microbiome that processes dietary components into carcinogens.¹⁵

Since the accepted model for the development of GC consists of a series of precancerous steps,¹³ prospective studies, especially those with long term follow-up, provided an important aid in understanding the association between *H. pylori* infection and gastric carcinogenesis. The meta-analysis conducted by the "Helicobacter and Cancer Collaborative Group", which included 1,228 GC patients, reported a Risk Ratio of 5.9 (95% CI: 3.4-10.3) for GC development in infected subjects.¹⁶ Some virulent bacterial strains (cytotoxin-associated gene A [*cag-A*]-positive) were associated with an increased risk of GC.¹⁷ However, in some studies, the variation in prevalence of *cag-A* positive strains did not explain the geographical heterogeneity in GC rates any better than the simple evidence of *H. pylori* infection. Currently, it is supported the concept that *H. pylori* eradication effectively reduces the incidence of GC, and the magnitude of the protective effect is greater among individuals with a higher baseline GC risk.³ This is an argument against an absolute point-of-no-return and has important implications supporting the theory that *H. pylori* eradication is beneficial in individuals with atrophic gastritis and/or IM.

Considering that the integrity of the gastric epithelium is maintained by gastric stem cells which proliferate and self-renew, giving rise to transient amplifying cells that replace the constantly renewing epithelium, two *H. pylori*-dependent pathways have been proposed. In the first, resident stem cells, in the chronically inflamed gastric environment, may accumulate a series of genetic and epigenetic changes that lead to the emergence of GC stem cells. In the

second, the chronic inflammatory stress may lead to recruitment and engraftment of bone marrow derived stem cells into the gastric epithelium, thus contributing to GC.¹⁸

Gastric mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma

A strong association between *H. pylori* infection and gastric MALT lymphomas has been proven by epidemiologic, biological and molecular genetic studies.¹⁹ The gastric mucosa normally contains lymphoid tissue. MALT lymphoma, that arises from B cells, appears in response to *H. pylori*-induced gastritis. The latter is characterized by a strong inflammatory response, increased cell turnover and damage by reactive oxygen species which, in a susceptible host, evolves along one of two pathways. First, a *H. pylori*-dependent MALT lymphoma, characterized by genomic abnormalities that are shared by some gastric diffuse large B-cell lymphomas (DLBCL) suggesting an increased risk of histological transformation. Second, a *H. pylori*-independent MALT lymphoma, whose growth harbours the cytogenetically stable translocation t(11;18), lacks a methylator phenotype and shows fewer genomic imbalances.²⁰ These cases rarely transform into DLBCL, yet are associated with more advanced stages and clinically aggressive behaviour. Since *H. pylori* eradication causes a regression of most localized gastric MALT lymphomas, the Maastricht V/Florence Consensus Report of the European Helicobacter Study Group recommends this approach as first-line treatment in these patients.¹⁰

2. Impact of *H. pylori* infection in extragastrroduodenal manifestations

Several studies have investigated the link between *H. pylori* infection and a variety of extragastrroduodenal manifestations, based on potential mechanisms involving a low-grade inflammatory state, molecular mimicry patterns and interference with the absorption of nutrients.²¹ Although the Maastricht V/Florence Consensus Report of the European Helicobacter Study Group has considered causal associations of *H. pylori* only with unexplained iron-deficiency anemia, idiopathic thrombocytopenic purpura and vitamin B12 deficiency,¹⁰ other potential links cannot be ruled out.²¹ For several of these supposed associations (ischemic heart disease, liver diseases, skin diseases, blood disorders, neurologic disorders and others), the hypothesis of an etiological role remains debated due to their multifactorial pathogenesis as well as from the epidemiological design of the studies.

Conflicts of interest. —The author certifies that there is no conflict of interest with any financial organization regarding the material discussed in the manuscript.

References

1. Warren JR et al. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983;1:1273-5.
2. Isaeva GS et al. Biological properties and pathogenicity of *Helicobacter pylori*. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2018;64:255-6.
3. Pellicano R et al. A 2016 panorama of *Helicobacter pylori* infection: key messages for clinicians. *Panminerva Med* 2016;58:304-17.
4. el-Omar EM et al. *Helicobacter pylori* infection and abnormalities of acid secretion

in patients with duodenal ulcer disease. *Gastroenterology* 1995;109:681-91.

5. Gillen D et al. The acid response to gastrin distinguishes duodenal ulcer patients from *Helicobacter pylori*-infected healthy subjects. *Gastroenterology* 1998;114:50-7.
6. Malfertheiner P et al. Peptic ulcer disease. *Lancet* 2009;374:1449-61.
7. Hopkins RJ et al. Relationship between *Helicobacter pylori* eradication and reduced duodenal and gastric ulcer recurrence: a review. *Gastroenterology* 1996;110:1244-52.
8. Talley NJ et al. American Gastroenterological association technical review: evaluation of dyspepsia. *Gastroenterology* 2005;129:1756-80.
9. Stanghellini V et al. Gastroduodenal disorders. *Gastroenterology* 2016;150:1380-92.
10. Malfertheiner P et al. Management of *Helicobacter pylori* infection - the Maastricht V/Florence Consensus Report. *Gut* 2017;66:6-30.
11. Tan AC et al. Eradication of *Helicobacter pylori* does not decrease the long-term use of acid-suppressive medication. *Aliment Pharmacol Ther* 1999;13:1519-22.
12. De Martel C et al. Global burden of cancer attributable to infections in 2018: a worldwide incidence analysis. *Lancet Glob Health* 2020;8:e180-90.
13. Correa P. The biological model of gastric carcinogenesis. *IARC Sci Publ* 2004;157:301-10.
14. Machado AM et al. *Helicobacter pylori* infection induces genetic instability of nuclear and mitochondrial DNA in gastric cells. *Clin Cancer Res* 2009;15:2995-3002.
15. Sakaki N et al. Ten-year prospective follow-up study on the relationship between *Helicobacter pylori* infection and progression of atrophic gastritis, particularly assessed by endoscopic findings. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16(Suppl 2):198-203.
16. Helicobacter and Cancer Collaborative Group. Gastric cancer and *Helicobacter pylori*: a combined analysis of 12 case-control studies nested within prospective cohorts. *Gut* 2001;49: 347-53.
17. Rugge M et al. Patients younger than 40 years with gastric carcinoma: *Helicobacter pylori* genotype and associated gastritis phenotype. *Cancer* 1999;85:2506-11.
18. Fagoonee S et al. Gastric cancer as a stem-cell disease: data and hypotheses. *Panminerva Med* 2014;56:289-300.
19. Parsonnet J et al. *Helicobacter pylori* and gastric lymphoma. *NEJM* 1994;330:1267-71.
20. Fischbach W et al. Long term outcome of patients with gastric marginal zone B cell lymphoma of mucosa associated lymphoid tissue (MALT) following exclusive *Helicobacter pylori* eradication therapy: experience from a large prospective series. *Gut* 2004;53:34-7.
21. Pellicano R et al. Extragastric diseases and *Helicobacters pylori*. *Helicobacter* 2020;25(Suppl 1):e12741.

МУКОЗАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ У РЕКОНВАЛЕСЦЕНТОВ COVID-19

Агафонова Е.В.^{1,3}, Решетникова И.Д.^{1,2}, Исаева Г.Ш.^{1,3}, Тюрин Ю.А.^{1,3}

MUCOSAL IMMUNITY FOR RECONVALESCENTS COVID-19

Agafonova E.V.^{1,3}, Reshetnikova I.D.^{1,2}, Isaeva G.Sh.^{1,3}, Tyurin Yu.A.^{1,3}

¹ ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, г. Казань

² ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет, г.Казань

³ ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», г. Казань, 420012, г. Казань.

Система местного иммунитета слизистых оболочек верхних и нижних дыхательных путей являясь основным плацдармом для внедрения и репликации SARS-CoV-2 подвергается массивному цитопатогенному воздействию. Репликация вируса вызывает клеточную деструкцию и связанный с вирусом апоптоз- воспалительную форму запрограммированной гибели, которая обычно наблюдается при цитопатических вирусных инфекциях. Используя различные паттерн-распознающие рецепторы (PRR) на клетках эпителия и альвеолярных макрофагов, высвобожденные патоген-ассоциированные молекулярные структуры (РАМР) запускают массивный локальный воспалительный процесс, стимулируя повышенную секрецию провоспалительных цитокинов и хемокинов ИЛ-6, ИФН γ , MCP1 и ИЛ-10. Массивное цитопатогенное действие вируса, цитокиновые дисбалансы, воспалительная инфильтрация клеток на уровне локального мукозального иммунитета может привести к резким повреждениям клеточных структур через чрезмерную секрецию протеаз и активных форм кислорода в дополнение к прямому повреждению, вызванному вирусом. Также, аспекты влияния SARS-CoV-2 на параметры мукозального иммунитета могут быть связаны и с процессом его лечения-применением антибактериальных и иммуносупрессивных препаратов. Состояние мукозального иммунитета в период реконвалесценции COVID-19 приобретает особое значение в связи с тем, что антигенная нагрузка при эскалации вирусных и бактериальных патогенов у реконвалесцентов вирусных инфекций, подавляющее большинство иммунных ответов происходят именно в барьерных тканях, в частности, в системе «мукозоассоциированной лимфоидной ткани» (МАЛТ). Несмотря на то, что в литературе имеются довольно обширные сведения об изменениях в системном иммунном статусе пациентов переболевших новой коронавирусной инфекцией COVID-19, состояние мукозального иммунитета остается мало исследованным.

Материалы и методы

У медицинских работников (МР) одного из стационаров перепрофилированного для лечения COVID 19 было проведено изучение показателей мукозального иммунитета

через 1,5-2 месяца после перенесенной инфекции (n=37). Критериями включения в исследование были симптомы перенесенного COVID 19, наличие положительных результатов ПЦР по данным анамнеза и/или уровней специфических IgG и Ig M в сыворотке крови. У 15 было диагностировано легкое (40,5 %), у 22 (59,5 %) среднетяжелое течение патологии. В контроле обследована группа здоровых доноров (сотрудники специализированной поликлиники ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора, которые по данным анамнеза и иммунологического обследования были отрицательными по COVID 19, N=30). Проводили комплексное исследование мукозального иммунитета в двух направлениях: первое – оценка клеточной составляющей с использованием метода мазков отпечатков со слизистой оболочки полости носа (СОПН), второе- исследование назальных секретов. В мазках отпечатках со СОПН определяли процентное соотношение клеточных элементов - нейтрофилов (N), эозинофилов (Э), лимфоцитов (Л) и эпителиальных клеток (ЭК). В популяции N выделяли клетки с различными классами деструкции - (n 0, n 1, n 2, n 3, n 4), при этом как n 0 рассматривали клетки без признаков деструкции; n 1, n 2 – клетки с минимальными и выраженными признаками деструкции цитоплазмы; n 3, n 4 клетки с выраженными признаками деструкции цитоплазмы и минимальными и выраженными признаками деструкции ядра. Фагоцитарную активность резидентных N в отношении аутофлоры оценивали с помощью показателей -ФАН 1 - процент фагоцитирующих N и ФАН 2 – процент деструктурированных N в цитоплазме которых сохранялись целые микроорганизмы, являющийся показателем незавершенности фагоцитоза. Для определения апоптоза N (N a) нами применялось окрашивание мазка отпечатка по Романовскому-Гимзе и исследование методом световой микроскопии. Изучение секреторной составляющей мукозального иммунитета включало оценку интегральных показателей характеризующие фагоцитарную активность N эвакуируемых в назальный секрет. Для исследования использовали микробную взвесь *Staphylococcus aureus* (лабораторный штамм на физиологическом растворе в концентрации 2×10^6 б/мл). Оценивали фагоцитарный индекс (ФИ) - процент “активных” лейкоцитов захвативших микробы, фагоцитарное число (ФЧ) - среднее количество микробов, поглощённых одним N. Способность к киллингу патогенов оценивали по проценту переваривания (% П) – отношению числа убитых бактерий к общему числу фагоцитированных бактерий и индексу переваривания (ИП) – среднему числу убитых бактерий на 1 посчитанный N. Исследование внутриклеточного кислородзависимого метаболизма N эвакуируемых в секрет, проводили, используя НСТ-тест (спонтанный и стимулированный варианты). Для определения концентрации ФНО- α , IL-10, ИФН- γ использовали наборы «Гамма-Интерферон-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-10-ИФА-БЕСТ», «Фактор некроза опухоли α -ИФА-БЕСТ», «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия. Исследование содержания мембранного маркера апоптоза - sCD95 (sAPO-1/FAS) осуществляли посредством иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием коммерческих наборов "Human sAPO-1/FAS ELISA" (Bender MedSystems GmbH, Austria).

Результаты и их обсуждение

В мазках-отпечатках со СОПН у реконвалесцентов COVID-19 по двум клеточным популяциям - N и ЭК регистрировалась тенденция к повышению, однако статистически значимых различий с группой контроля не отмечено. Регистрировалось снижение популяций Л (3,5 %; $p < 0,05$) и Э (1,5 %; $p < 0,05$) и, таким образом, клеточная составляющая мукозального иммунитета у реконвалесцентов COVID-19 характеризуется лимфо и эозинопенией. Цитоморфологическая оценка N мукозального иммунитета продемонстрировала усиление деструктивных и апоптотических процессов в клетке. У реконвалесцентов COVID-19 выявлено нарастание N с признаками деструкции – n 1 в 1,9 ($p < 0,05$), n 2 в 2,5 ($p < 0,05$), n 3 в 3,8 ($p < 0,05$), n 4 в 2,4 ($p < 0,05$) раза. В популяции N отмечено нарастание содержания N a (11,1 %; $p < 0,05$) которые характеризовались сморщиванием клетки, перестройкой мембранных структур, уменьшением объема, конденсацией ядра, разрывами нитей ядерной ДНК с распадом ядра на части. Отмечены выраженные изменения показателей, характеризующих фагоцитоз аутофлоры - снижение ФАН 1 (14,7 %; $p < 0,05$) и увеличение ФАН 2 (12,7; $p < 0,05$). Для ФАН 1 выявлены корреляции с n 2 ($r = 0,47$; $p < 0,05$), n 3 ($r = 0,49$; $p < 0,05$), n 4 ($r = -0,51$; $p < 0,05$), для ФАН 2 с n 3 ($r = -0,53$; $p < 0,05$), n 4 ($r = -0,57$; $p < 0,05$).

У реконвалесцентов COVID-19 регистрируется изменение фагоцитарной активности N “эмигрирующих” в назальный секрет- снижается содержание “активных” N (ФИ - 22,7 %; $p < 0,05$), объем захваченного патогена (ФЧ -2,71; $p < 0,05$). Для ФИ регистрируются корреляции с n 2 ($r = -0,49$; $p < 0,05$), n 3 ($r = -0,53$; $p < 0,05$); n 4 ($r = -0,44$; $p < 0,05$), для ФЧ с n 2 ($r = -0,47$; $p < 0,05$), n 3 ($r = -0,49$; $p < 0,05$); n 4 ($r = -0,61$; $p < 0,05$). На уровне N “эмигрирующих” в секреты регистрируется угнетение процессов киллинга патогенов – уменьшается % П (2,8 %; $p < 0,05$) и ИП (0,3; $p < 0,05$). Для данных показателей также регистрируются корреляции - % П с n 2 ($r = -0,55$; $p < 0,05$), n 3 ($r = -0,47$; $p < 0,05$), n 4 ($r = -0,63$; $p < 0,05$), ИП с n 2 ($r = -0,53$; $p < 0,05$), n 3 ($r = -0,62$; $p < 0,05$), n 4 ($r = -0,51$; $p < 0,05$). У реконвалесцентов COVID-19 регистрируется резкое угнетение как спонтанной (6,91%; $p < 0,001$), так и стимулированной внутриклеточной бицидности N “эвакуируемых” в носовую полость (7,8; 33,9 %; $p < 0,001$). Наши данные убедительно свидетельствуют о том, что цито-деструктивные процессы в популяции N системы MALT у реконвалесцентов COVID-19 отрицательно регулируют фагоцитарную активность клетки. В назальном секрете реконвалесцентов COVID-19 регистрировалось увеличение содержания мембранного маркера апоптоза – sCD95 (sAPO-1/FAS) по сравнению с группой здоровых доноров (79,7 пг/мл; $p < 0,05$). Регистрировались корреляции уровня sAPO-1/FAS с уровнем ФНО α ($r = 0,47$; $p < 0,05$), N a ($r = 0,47$; $p < 0,05$) и Л ($r = 0,47$; $p < 0,05$). Изучение цитокинового профиля назального секрета у реконвалесцентов COVID-19 выявило резкий дисбаланс на уровне ключевых про и противовоспалительных цитокинов. Уровень ИЛ-10 в назальном секрете реконвалесцентов COVID-19 практически в 3,9 раза превышал уровень здоровых доноров (10,82 пг/мл; $p < 0,05$). Для ИЛ 10 выявлены корреляции с уровнем ИФН- γ ($r = -0,57$; $p < 0,05$), спонтанной ($r = -0,58$ $p < 0,05$) и индуцированной микробиоцидостью N ($r = -0,61$; $p < 0,05$). У

реконвалесцентов COVID-19 отмечен повышенный уровень провоспалительного цитокина ФНО α (6,44 пг/мл; $p < 0,05$). В литературе имеются многочисленные сообщения, демонстрирующие изменение продукции ФНО α при вирусных инфекциях. У реконвалесцентов COVID-19 нами обнаружено резкое снижение содержания ИФН- γ (1,16 пг/мл, $p < 0,05$). Отмечаются отрицательные корреляции уровня ИФН- γ с параметрами функциональной активности N “эвакуируемых” в назальный секрет характеризующими: захват -ФИ ($r = -0,53$; $p < 0,05$), ФАН ($r = -0,57$; $p < 0,05$), ФЧ ($r = -0,57$; $p < 0,05$), киллинг -% П ($r = -0,57$ $p < 0,05$), ИП ($r = -0,57$; $p < 0,05$), уровню внутриклеточной биоцидности - НСТ сп. ($r = -0,57$ $p < 0,05$), НСТ ст. ($r = -0,57$ $p < 0,05$). Таким образом при COVID-19 нарушение баланса цитокинового профиля формируемое в остром периоде патологии, сохраняется и в периоде реконвалесценции. Повышенное содержание про/противовоспалительных цитокинов (ФНО α / ИЛ 10) отрицательно регулирует содержание ИФН γ который прямо влияет на формирование функциональной неполноценности N системы MALT– состояние кислородзависимой микробицидности, функций поглощения, захвата и киллинга патогенов. Компенсаторное повышение противовоспалительного цитокина ИЛ 10 под воздействием белков COVID-19 отрицательно регулируют уровень ИФН- γ и является кофактором депрессии внутриклеточной биоцидности N системы MALT. Повышенный уровень провоспалительного цитокина ФНО α формирует усиление апоптотических и деструктивных изменений N эвакуируемых в назальный секрет, что способствует угнетению функционально-метаболической активности клетки, а также формированию лимфопении и эозинопении на уровне клеточных элементов системы MALT. Вирусиндуцированные нарушения мукозального иммунитета у реконвалесцентов COVID-19 определяют необходимость разработки методов иммунореабилитации

ЦИТОКИНЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ГАСТРОДУОДЕНИТАХ, АССОЦИИРОВАННЫХ С HELICOBACTER PYLORI

Агафонова Е.В.^{1,2}, Исаева Р.А.³, Исаева Г.Ш.^{1,2}

CYTOKINES IN CHRONIC GASTRODUODENITIS ASSOCIATED WITH HELICOBACTER PYLORI

Agafonova E.V.^{1,2}, Isaeva R.A.³, Isaeva G.Sh.^{1,2}

¹ ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, Казань, 420015, г. Казань

² ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» МЗ РФ , г.Казань

Инфекция *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) является основным этиопатогенетическим агентом заболеваний верхних отделов желудочно-кишечного тракта. Инфицирование *H.pylori* индуцирует воспалительные процессы в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта (СОЖ), нарушает функциональную активность иммунной системы, в частности Т-лимфоцитов-хелперов и продуцируемых ими цитокинов. Персистенция *H.pylori* на уровне СОЖ, вызывая активные воспалительные процессы, сопровождается массивным апоптозом иммунокомпетентных клеток, инфильтрацией слизистой оболочки желудка лимфоцитами, нейтрофилами, плазматическими клетками, пролиферацией фибробластов. Данные процессы в значительной мере индуцируются и регулируются различными профилями (про/противовоспалительные, Th1/Th2 профиль) цитокинового статуса .

Хронические гастродуодениты занимают одно из первых мест в структуре заболеваний органов пищеварения, более половины всего взрослого и детского населения страдает данной патологией. Проведенные за последние годы исследования свидетельствуют о том, что развитие хронических гастродуоденитов, ассоциированных с *H.pylori*, сопровождается нарушениями системного и локального цитокинового статуса. Некоторые исследования свидетельствуют об изменениях продукции провоспалительных (TNF- α , IL-1 β , IL-6, ИЛ-8) и противовоспалительных (ИЛ-10, ТФР- β) цитокинов в СОЖ. Исследования, проведенные за последние годы, во многом подтверждают данные о том, что нарушения цитокинового статуса при ХГД при развитие хронического воспаления инициируется *H.pylori*. Необходимо также отметить что сведения о нарушениях системного и локального синтеза цитокинов при данной патологии ограничиваются единичными исследованиями.

Цель исследования-изучение системного и локального цитокинового профиля при хронических гастродуоденитах, ассоциированных с *H.pylori*.

Материалы и методы.

Обследованы пациенты с верифицированным диагнозом хронический гастродуоденит, ассоциированный с *H.pylori*: из них дети составили 43 (средний возраст 10,5 лет), взрослые 46 (средний возраст 43,4 года) человек. Всем больным проведено общеклиническое обследование с учетом жалоб (оценивали выраженность абдоминально-болевого и диспепсического синдрома), данных анамнеза (учитывалась длительность заболевания и количество его рецидивов) и лабораторных методов исследования. Всем больным была проведена ФЭГДС, при этом учитывалось наличие гиперемии, отека, полнокровия сосудов СОЖ, наличие ее дефектов, производился прицельный забор биопсийного материала в антральном и фундальном отделах желудка. Диагноз верифицировали при гистологическом исследовании биоптата СОЖ, в соответствии с международной визуально-аналоговой шкалой морфологических

изменений при хроническом гастрите. Наличие *H.pylori* подтверждали тремя методами: уреазным экспресс-тестом с биоптатом СОЖ, ИФА на антитела к *H.pylori*, гистологическим и цитологическим изучением биоптатов СОЖ. Оценивали системный - TNF- α , IFN- γ , IL-1, IL-4, IL-5, IL-12 (группа 1) и локальный - TNF- α , IFN- γ , IL-1, IL-10 цитокиновый профиль- (группа 2). Количественное содержание цитокинов в периферической крови и биоптатах желудка определяли методом ИФА с использованием стандартных наборов реактивов ООО «Цитокин», Санкт-Петербург, Россия и «Вектор-Бест» Новосибирск, Россия. Для контроля были сформированы 2 группы, сопоставимые по возрасту, у которых по данным 3 методов исследования на *H.pylori* результат был отрицательным: дети Кд (N=17) и взрослые Кв (N=24).

Результаты

Цитокины синтезируются в процессе реализации механизмов адаптивного или врожденного иммунитета- проявляют свою активность при низких концентрациях, служат медиаторами иммунной и воспалительной реакций, обладают плеiotропной (полифункциональной) активностью. Нарушение балансов цитокин-продуцирующей активности иммунокомпетентных клеток способствует хронизации и прогрессированию воспалительных заболеваний. Изучение баланса цитокинов целесообразно проводить с использованием важных профилей иммунного ответа – про/противовоспалительного, Th1/Th2.

При исследовании системного профиля про/противовоспалительные цитокины при ХГД, ассоциированных с *H.pylori* (группа 1) нами регистрировалось нарастание уровней провоспалительных цитокинов TNF- α - в 2,2 раза по сравнению с Кд (35,5 пг/мл; $p < 0,05$), IL 1 в 1,6 раза по сравнению с группой Кд (2,2 пг/мл; $p < 0,05$). Выявлены прямые корреляции уровней TNF- α и IL 1 с уровнем антител к *H.pylori* ($r=0,6$, $r=0,5$; $p < 0,05$ $p < 0,05$ соответственно). Показано, что повышенный уровень провоспалительных цитокинов является отражением активности и тяжести патологического процесса, ассоциированного с *H.pylori*. В частности, TNF- α -многофункциональный цитокин плеiotропного действия, играет превалирующую роль в формировании местных и общих патологических процессов, в том числе и воспалительной реакции в СОЖ. Роль IL-1 β в развитии воспалительных заболеваний пищеварительного тракта неоднозначна. С одной стороны, он может повреждать СОЖ, с другой, снижать влияние других неблагоприятных факторов и принимать участие в репаративных процессах, что является важной функцией, так как от качества восстановления зависит вероятность рецидива болезни. Также единичные исследования свидетельствуют и о важной роли группы противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10, TGF β и др.) в этиопатогенезе воспаления, индуцируемого разными патогенами, в том числе и *H.pylori*. Противовоспалительные цитокины обладают собственными эффекторными функциями (противовирусными, цитотоксическими). При изучении системного цитокинового профиля про/противовоспалительные цитокины в группе 1 при ХГД ассоциированном с *H.pylori* нами регистрировалось нарастание уровня противовоспалительного цитокина

IL-4 в сыворотке крови (0,3 пг/мл; $p < 0,05$). При исследовании системного цитокинового профиля Th1/Th2 в группе 1 отмечено снижение уровня IL 12 в 1,9 раза по сравнению с группой Кд (1,8 пг/мл; $p < 0,05$). В последние годы установлено, что ИЛ 12 является ключевым цитокином в развитии лимфоцитов Th1 профиля иммунного ответа. К важнейшим функциям ИЛ 12 относят активацию цитотоксичности, формирование резистентности к бактериальной или паразитарной инфекции. В группе 1 установлено нарастание уровня цитокинов Th 2 профиля - наряду с указанным выше повышенным уровнем ИЛ-4, регистрировалось повышение уровня ИЛ 5 (2,9 пг/мл, $p < 0,05$). ИЛ-4 ограничивает образование высокоактивных метаболитов кислорода и азота, служит кофактором пролиферации покоящихся В-лимфоцитов. ИЛ-5 -фактор роста и дифференцировки В-клеток, стимулирует селекцию Ig A, относится к цитокинам Th 2 профиля. Таким образом, при ХГД ассоциированных с *H.pylori* системный цитокиновый профиль характеризовался дисбалансами- про/противовоспалительных цитокинов и цитокинов Th1/Th 2 в сторону снижения Th1 и нарастания цитокинов Th 2 профиля.

При изучении локального цитокинового статуса (группа 2) в биоптатах со СОЖ также было выявлено нарушение баланса про/противовоспалительные цитокины. По сравнению с системным цитокиновым профилем, регистрировалось более выраженное нарастание уровней про- и противовоспалительных цитокинов - ИЛ 1 в 8,5 (23,8 пг/мл; $p < 0,05$), TNF-а в 12,2 (13,4 пг/мл; $p < 0,05$) раза. Уровень противовоспалительного цитокина ИЛ -10 в биоптатах СОЖ пациентов с ХГД в 3,9 раза превышал уровень группы Кв (10,82 пг/мл; $p < 0,05$). ИЛ-10 – один из наиболее важных противовоспалительных цитокинов, оказывающий, главным образом, противовоспалительное и антицитокиновое действие. Источниками ИЛ-10 являются Т-хелперы-2 типа, свои эффекты этот цитокин осуществляет через рецепторный комплекс, который экспрессируется на поверхности многих клеток. Усиление секреции ИЛ-10 в СОЖ, с одной стороны, может способствовать снижению локального воспалительного ответа, что является защитным феноменом, с другой - быть причастным к неспособности иммунной системы элиминировать возбудителя, что обуславливает рецидивирование и хронизацию заболевания. Локальный цитокиновый профиль при ХГД ассоциированных с *H.pylori* в нашем исследовании характеризовался снижением уровня IFN- γ (2,6 пг/мл; $p < 0,05$ соответственно). IFN- γ – важнейший цитокин клеточного иммунного ответа, оппозиционный цитокин Th2 профиля. Снижение уровня IFN γ ассоциируется с угнетением активности Th1 профиля иммунного ответа, рецидивированием и хронизацией патологии.

Выводы.

1. Локальный и системный цитокиновый статус при ХГД ассоциированных с *H.pylori* характеризуется дисбалансом Th1/Th2 профиля иммунного ответа, нарастанием уровней провоспалительных и противовоспалительных цитокинов.

2. Локальные нарушения выработки цитокинов оптимально отражает нарушения профиля цитокинового статуса при инфицировании *H.pylori*.

3. Повышенный уровень провоспалительных цитокинов отражает активность и тяжесть патологического процесса, ассоциированного с *H.pylori*. Повышенный уровень противовоспалительных цитокинов, угнетение Th1 профиля иммунного ответа при инфицировании *H.pylori* влияет на хронизацию и рецидивирование заболеваний, ассоциированных с данным патогеном.

ПАТОГЕНЫ КАК ФАКТОРЫ РЕАЛИЗАЦИИ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Агафонова Е.В.^{1,2}, Исаева Г.Ш.^{1,2}, Решетникова И.Д.^{1,3}, Горшунова Н.А.¹, Сафина Л.Ф.^{1,3}, Смирнова Л.Р.¹, Шарифуллина А.А.^{1,3}, Владимирова Д.И.¹

PATHOGENS AS FACTORS OF REALIZATION OF ALLERGIC PATHOLOGY UNDER MODERN CONDITIONS

Agafonova E.V.^{1,2}, Isaeva G.Sh.^{1,2}, Reshetnikova I.D.^{1,3}, Gorshunova N.A.¹, Safina L.F.^{1,3}, Smirnova L.R.¹, Sharifullina A.A.^{1,3}, Vladimirova D.I.¹

¹ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, г. Казань.

² ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» МЗ РФ, г.Казань.

³ ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет, г.Казань.

В последние десятилетия во всем мире наблюдается значительный рост распространенности аллергических заболеваний (АЗ) среди всех возрастных групп населения. Патогенетической основой АЗ является аллергическое воспаление, основными участниками которого являются эозинофилы, тучные клетки, лимфоциты, а также базофилы и эндотелиальные клетки, определяющие раннюю и позднюю фазы воспаления. Среди патогенетических механизмов реализации аллергического воспаления в настоящее время выделяют: повышенную экспрессию интерлейкинов 4 и 5 Т-хелперами 2-го типа, избирательную активацию и продление жизни эозинофилов. Рост заболеваемости АЗ определяется усилением антигенной нагрузки, что, в значительной мере, связывают с факторами окружающей среды-экологическими, биологическими и социальными. Микробиота человека в современном представлении главный первичный защитный барьер иммунной системы, от “здоровья” которой зависит манифестация иммунной, в том числе и аллергической патологии. Патогены (глистные и протозойные инвазии, бактерии) привлекают особое внимание как факторы, нарушающие стабильность микробиоты и модифицирующие распространенность и течение АЗ.

Цель исследования Оценить распространенность ряда патогенов (гельминты, простейшие, бактерии) при АЗ в современных условиях и изучить их влияние на некоторые показатели аллергического воспаления

Материалы и методы. Проанализированы данные популяционных исследований по распространенности некоторых патогенов (гельминтозы, протозоозы, бактерии) у пациентов с АЗ на базе консультативно-диагностической поликлиники ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора. Мониторинг и диагностика гельминтозов и протозоозов осуществлялась прямыми копроовоскопическими и серологическими методами. Прямые копроскопические методы включали влажный мазок из консерванта, комбинированные методы копроовоскопической диагностики (патенты на изобретение- N2368324 “Способ диагностики аскаридоза” и N 2371719 “Способ диагностики лямблиозной инвазии” и “Комплексную систему диагностики паразитозов и протозоозов” (патент на изобретение RU 2716816 C2). Для диагностики *H.pylori* в кале использовали “Тест систему для прямого качественного выявления антигена *H.pylori* в фекальном материале человека” ООО “Гем” Россия. Для проведения серологических исследований использованы тест системы “Лямблия-антитела-ИФА-Бест”, “Лямблия Ig М-ИФА-Бест”, “Хелико-Сag А-Ig G”, “Гельминты-Ig G-Бест”, “Аскарида-Ig G-Бест”, “Анизакида-Ig G-Бест”; фирма “Вектор-Бест”, Новосибирск. Анализ распространенности патогенов был проведен в 2 группах: первая- пациенты с АЗ (N=785). Критериями включения в группу были симптомы АЗ (ринорея, заложенность носа, рецидивирующий кашель, приступы удушья, кожные рецидивирующие высыпания в сочетании с кожным зудом), повышенный уровень общего Ig E (у детей более 75 МЕ/мл, у взрослых более 100 МЕ/мл), положительные результаты кожного тестирования с аллергенами и/или определения специфических Ig E в сыворотке крови. Вторая группа- пациенты обследованные по обращаемости в консультативную поликлинику без симптомов АЗ (N=2853).

Результаты

Проведен анализ распространенности патогенов по обращаемости в консультативно-диагностическую поликлинику прямыми методами паразитологической диагностики (данные за 2017-2019 гг, вторая группа). Наиболее часто регистрируемыми были инвазии Protozoa- *Blastosistis* spp (12,1-16,7 %%), *Lambliia intestinalis* (6,9-9,8 %%) и гельминтами- *Enterobibs vermicularis* (4,3-7,3 %%). В сравнительном аспекте при мониторинге патогенов у пациентов с АЗ (группа 1) регистрируется более высокий уровень инвазий Protozoa: *Blastosistis* spp 23,7-29,7 %%, *Lambliia intestinalis* 22,5-29,0 %%. Также отмечается и более высокий уровень выявляемости других патогенов- *Enterobibs vermicularis* 13,8-19,5 %%, *Ascaris lumbricoideus* 1,7-2,9 %%, *H. Pylori* (14,4-19,5).

Проведен анализ серопозитивности к патогенам сывороток крови при применении иммунологических методов диагностики у пациентов по обращаемости в консультативно-диагностическую поликлинику (данные за 2016-2019 гг., вторая группа). Наиболее высокий % серопозитивных сывороток регистрировался к Сag А антигену *H. pylori* (19,7-26,8 %%), антигенам *Ascaris lumbricoideus* (17,0-19,5 %%), *Toxocara canis*

(9,9-15,8 %), *Opisthorchis felineus* (5,7-7,9 %%), *Lamblia intestinalis* (4,6-5,5 %%), *Anisakis spp*(3,6-5,0 %%). При анализе серопозитивности к патогенам у пациентов с АЗ (группа 1) в сравнительном аспекте регистрируется более высокий уровень серопозитивности к Cog А антигену *H. Pylori* (23,7-30,8 %%), антигенам *Toxocara canis* (22,2-25,9 %%) и *Ascaris lumbricoideus* (18,8- 22,6 %%). За период с 2008 по 2018 гг. у детей с АЗ было выявлено 32,1 % (17,6-40,2 %%) серопозитивных сывороток содержащих суммарные и 7,8 % содержащие Ig М антитела к антигенам *Lamblia intestinalis*. Таким образом, у лиц с АЗ резко (практически более чем в 2 раза) возрастает серопозитивность к антигенам *Lamblia intestinalis*. Уровень серопозитивности к антигенам *Opisthorchis felineus* и *Anisakis spp.* (5,7-7,9 %% ; 3,6-5,0 %%) практически сохраняется на уровне группы пациентов, анализируемой по обращаемости-(5,9-8,3 %% ;4,8-6,1 %% соответственно). Регистрируемый нами тренд повышения серопозитивности к некоторым патогенам у пациентов с АЗ определяется не только инфицированием, но и формированием эндогенных структур с антигенными свойствами, их замедленной элиминацией в связи с иммунодепрессией у пациентов с АЗ. Показано, что при АЗ отмечаются временные интервалы (в пределах 4-5 лет) с максимально высокими и максимально низкими показателями специфического иммунитета к антигенам *Protozoa (L. intestinalis)*, что объясняется эффектом “возрастных когорт”. Нами показано, что у пациентов с АЗ преобладают невысокие уровни серопревалентности, что определяется преимущественно низкими уровнями инфицирования и иммунодепрессией при АЗ. Выявлено синергическое влияние ряда патогенов (*L. Intestinales.*, *H. pylori*, *Ascaris lumbricoideus*, *Toxocara canis*) на формирование гипериммуноглобулинемии Е при АЗ. Данный тип влияний отмечается во всех возрастных периодах с максимальной реализацией в детском возрасте. Показано, что факторами влияющими на уровень общих и специфических IgЕ, являются не только высокие и средние, но и низкие уровни инфицирования патогенами. Оценка уровня общего IgЕ в зависимости от нозологической формы гельминта продемонстрировала достоверно более высокие значения при инвазии *Toxocara canis* и *Ascaris lumbricoideus*- гельминтозов с высокой реализацией Th 2 профиля иммунного ответа. Эозинофилия периферической крови является патогномичным симптомом как аллергических заболеваний, так и паразитарных инвазий. Максимальное влияние на формирование эозинофилии при АЗ оказывают инвазии *Ascaris lumbricoideus* и *Toxocara canis* (10,9; 9,0 %%). У инвазированных пациентов с АЗ выявлен более высокий уровень специфических Ig Е к миксту плесневых грибов-15,4 МЕ/мл (p<0,05), клещам домашней пыли: *Dermatophagoides pteronyssimus*-8,8 МЕ/мл(p<0,05), *Dermatophagoides farinae* 9,7 МЕ/мл(p<0,05), эпителию кошки-24,7 МЕ/мл(p<0,05), эпителию собаки 19,2 МЕ/мл, коровьему молоку 17,8 МЕ/мл (p<0,05), яичному белку 11,7 МЕ/мл(p<0,05), Bos d8 (казеину) 3,7 МЕ/мл(p<0,05), Bos d 5 (β-лактоглобулину)- 1,7 МЕ/мл(p<0,05), фундуку- 2,9 МЕ/мл(p<0,05). Также у инвазированных пациентов с АЗ отмечено нарастание полисенсibilизации к пищевым аллергенам.

Таким образом, фоновые патогены (гельминтозы, протозоозы, *H. pylori*) способствуют развитию вторичных иммунодефицитных состояний, на фоне которых реализуется, в определенных условиях, специфический IgE ответ. Усугубляя переключение Th2 профиля иммунного ответа, который лежит в основе АЗ и паразитозов, патогены способствуют распространенности и утяжелению течения АЗ во все возрастные периоды.

ДОЗОРНОЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ СЛЕЖЕНИЕ ЗА ГРИППОМ В УСЛОВИЯХ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ИНФЕКЦИИ COVID–19 В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ В 2020–2021ГГ.

Аношко О.Н., Лапо Т.П., Кищенко Е.Н., Сивец Н.В., Шмелёва Н.П.

SENTRY EPIDEMIOLOGICAL TRACKING FOR INFLUENZA UNDER THE SPREAD OF COVID-19 INFECTION IN THE REPUBLIC OF BELARUS IN 2020–2021

Anoshko O.N., Lapo T.P., Kishchenko E.N., Sivets N.V., Shmeleva N.P.

Государственное учреждение
«Республиканский научно–практический центр
эпидемиологии и микробиологии»,
г. Минск, Республика Беларусь

Введение. В настоящее время особое внимание исследователей уделяется инфекции COVID–19 (англ. COronaVIrus Disease 2019), что объясняется масштабами пандемии. Однако не стоит упускать из вида, что грипп традиционно вносит существенный вклад в структуру общей заболеваемости различных возрастных и социально-экономических групп населения [1].

Актуальность данной проблемы обусловлена тем, что респираторные заболевания причиняют значительный экономический ущерб, прежде всего ввиду их широкого распространения, а также возможного тяжелого течения болезни, которое требует госпитализации [2].

Целью работы явилось обобщение и анализ данных, полученных в рамках дозорного эпидемиологического слежения за гриппом в Республике Беларусь (РБ) в период сезонного подъема заболеваемости с 40 календарной недели (к.н.) 2020г. по 20 к.н. 2021г.

Материалы и методы. Биологический материал для исследований был получен из точек дозорного эпидемиологического слежения за острыми респираторными инфекциями (ОРИ), гриппоподобными заболеваниями (ГПЗ) и тяжелыми острыми

респираторными инфекциями (ТОРИ) от пациентов с клиническими симптомами острой респираторной вирусной инфекции (ОРВИ) и гриппа.

Для выявления генетического материала вирусов гриппа типа А и В доставленные клинические образцы (назальные мазки и мазки из зева) были исследованы методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР–РВ) с использованием набора реагентов «ФЛУ–ген» (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, РБ).

Анализируемые данные были получены из больничной и поликлинической документации. Учитывался возраст, клинический диагноз, категория случая, лабораторное подтверждение гриппа и госпитализация.

Результаты. За отчетный период было исследовано 2278 клинических образцов на содержание генетического материала вирусов гриппа А и В. По клинической симптоматике образцы подразделялись следующим образом: ОРИ – 43,2% (n=984), ГПЗ – 25,5% (n=581), ТОРИ – 31,3% (n=713).

В структуре заболевших на долю детского населения приходилось 56,9% (n=1296), на долю взрослого населения – 43,1% (n=982) случаев.

Респираторные заболевания в виде ОРИ и ГПЗ чаще встречались в возрастной группе у детей 5–14 лет – 36,5% (n=359) и 34,9% (n=203) случаев соответственно. В категории ТОРИ преобладала возрастная группа 30–64 года – 43,8% (n=312). Наименьшая доля заболевших в форме ОРИ и ГПЗ наблюдалась у пациентов старше 65 лет и составила 2,9% (n=29) и 3,4% (n=20) случаев соответственно. ТОРИ реже регистрировали у детей 15–17 лет – 3,1% (n=22).

На долю пациентов, обратившихся в стационар, приходилось 35,5% (n=808). Удельный вес ТОРИ от общего числа госпитализированных составил 65,1% (n=526), где на долю клинического диагноза пневмония приходилось 63,1% (n=332) случаев.

В дозорных образцах, отобранных в течение эпидемического сезона и исследованных методом ПЦР-РВ, РНК вирусов гриппа А и В не выявлена.

По данным Flu News Europe в умеренной зоне северного полушария активность вирусов гриппа оставалась ниже межсезонного уровня, чем ожидалось для этого времени года. Однако в ряде стран сообщалось о единичных случаях обнаружения вирусов гриппа А и В. Также отмечалось спорадическое выявление вирусов гриппа в образцах из недозорных точек (больницы, школы, учреждения первичной помощи), не участвующие в дозорном слежении. При этом обнаруживались вирусы гриппа обоих типов – А и В. Общая доля положительных результатов из числа исследованных образцов составила 0,1% [3].

Выводы: Особенностью эпидсезона 2020–2021гг. являлось наблюдение за возбудителями гриппа в условиях распространения инфекции COVID–19. Принимая во внимание тот факт, что активность SARS–COV–2 (англ. Severe acute respiratory syndrome–related coronavirus 2) присутствовала в предэпидемический период, ожидалась совместная циркуляция вирусов и высокий риск заражения одновременно несколькими возбудителями, что представляло бы опасность для групп риска (дети от 6 месяцев до 5

лет, пожилые люди (старше 65 лет), беременные женщины, лица с хроническими заболеваниями и работники здравоохранения).

Отсутствие лабораторно подтвержденных случаев гриппа не говорит о том, что вирус не циркулирует в популяции. Лабораторную диагностику желательно проводить для всех клинических случаев из категории ТОРИ. Однако из-за ограниченных ресурсов это не всегда представляется возможным.

Среди причинных факторов, которые сыграли немаловажную роль в предупреждении заболеваемости гриппом и ОРВИ, следует отметить медико-санитарные и социальные меры, направленные на предотвращение передачи инфекции COVID-19. Кроме того, широкое распространение SARS-COV-2 способствовало вытеснению из циркуляции сезонных вирусов гриппа и других возбудителей ОРВИ, что также повлияло на эпидемический процесс в целом.

Для получения более полных данных в отношении бремени болезней, связанных с гриппом в условиях распространения инфекции COVID-19, необходим более длительный период наблюдения, что даст информацию о динамике и тенденциях распространения респираторных инфекций и внесет существенный вклад в прогнозирование заболеваемости на будущий эпидсезон.

Список литературы:

1. Справочное пособие для оценки бремени болезни, связанного с сезонным гриппом, на уровне населения. ВОЗ: Женева, Швейцария.
2. Руководство ВОЗ по оценке экономического бремени сезонного гриппа. ВОЗ: Женева, Швейцария, 2016г.
3. Flu News Europe: [www.flunewseurope.org].

СЕКРЕЦИЯ IGA ПРОТЕИНАЗ НАЗОФАРИНГЕАЛЬНЫМИ ПНЕВМОКОККАМИ

Баязитова Л.Т.^{1,2}, Тюпкина О.Ф.¹, Чазова Т.А.¹, Тюрин Ю.А.^{1,2}, Исаева Г.Ш.^{1,2}

SECRETION OF IGA PROTEINASES BY NASOPHARYNGEAL PNEUMOCOCCUS

Bayazitova L.T.^{1,2}, Tyupkina O.F.¹, Chazova T.A.¹, Tyurin Yu.A.^{1,2}, Isaeva G.Sh.^{1,2}

*1-ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора, Россия, Казань
2-ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет» МЗ РФ*

Введение. Микробиота носоглотки активно участвует в антиинфекционной защите [1]. Формирование мукозального барьера обеспечивается путем секреции иммуноглобулинов (IgA). Значение sIg A в обеспечении местного антимикробного иммунного ответа огромное; sIgA является преобладающим в слизистых оболочках, обладает специфичностью для конкретного микроорганизма [2]. Однако не все микроорганизмы элиминируются клетками иммунной системы, некоторые из них вступают с системой иммунитета в синергические отношения с развитием толерантности. Хотя формирование толерантности к комменсалам, вероятно, зависит от множества факторов, значимую роль играют регуляторные T-клетки Foxp3+. Комменсалы способствуют индукции регуляторных T-клеток посредством прямого восприятия микробных продуктов или метаболитов T-клетками или дендритными клетками, что, в свою очередь, предотвращает избыточную реакцию иммунной системы и развития воспаления [3]. К сожалению, сложно спрогнозировать, когда комменсальный микроорганизм потеряет толерантность иммунной системы и начнет проявлять патогенные свойства, так как микробиота носоглотки представляет собой динамичную систему, в которой микроорганизмы находятся в состоянии непрерывного взаимодействия с иммунной системой макроорганизма и другими микроорганизмами, колонизирующими этот биотоп [4].

Наиболее значимыми патогенами являются *Streptococcus pneumoniae*-потенциальные возбудители пневмококковых инфекций. Пневмококковые инфекции (ПИ) являются одной из серьезных проблем современного здравоохранения во многих странах мира [5]. Резервуаром и источником возбудителя ПИ в популяции являются больные люди и бактерионосители. Дети младшего возраста и пожилые люди относятся к группе высокого риска по ПИ. [6,7]. В последнее время интенсивно изучаются геномные/фенотипические различия между серотиповыми/клональными группами пневмококков и их детерминанты вирулентности, обеспечивающие переход неинвазивных в инвазивные формы.

Цель исследования - исследование распространенности различных серотипов *S. pneumoniae* у детей в Республике Татарстан; изучение способности к продукции IgA протеиназ назофарингеальными пневмококками.

Материалы и методы. Идентификацию *S. pneumoniae* проводили на основании морфологических, культуральных данных [8]. Для дифференциальной диагностики использовали оптохиновый тест, лизис в присутствии солей желчи. Серотипование штаммов проведено методом мультиплексной ПЦР. М-ПЦР проводили по схеме, представленной в работе Pai R., 2006 г. [9]. IgA-протеиназную активность (способность лизатов расщеплять субстрат (humanIgA; Sigma) на фрагменты при pH 7.4 и 25 C.) проводили методом ИФА и рассчитывали на количество белка в лизате. Активность выражали в условных единицах (усл. ед), где 1 усл.ед соответствовала расщеплению 1 мкмоль субстрата за 1 мин при 25 C на 1 мг белка лизата [10].

Результаты. Выделены и изучены вирулентные свойства штаммов пневмококков, выделенных от 270 здоровых детей-бактерионосителей, посещающих детские дошкольные учреждения. Анализ серотипового состава пневмококков, циркулирующих у детей Республики Татарстан, выявил доминирование «вакцинных» серотипов. В числе доминирующих серотипов регистрировались 6A/B, 11A, 14, 19F. Но в то же время в носоглотке детей-носителей *Streptococcus pneumoniae* наряду с «вакцинными» серотипами обнаруживались и невакцинные изоляты. Так, в 2017 г. обнаружены штаммы из серогруппы 16 F и серотипа 35 B. В 2018 году выявлены 4 вида «невакцинных» штаммов; в 2019-2020 гг регистрировались 6 видов невакцинных серотипов - 15A, 6F, 31, 35B, 35F, 38. Суммарный удельный вес невакцинных серотипов варьировал на уровне 12%; в 2020 г отмечен рост до 13, 3% в популяции.

Изучение способности к продукции IgA протеиназ назофарингеальных пневмококков- (n=236). показало, что высокой IgA протеазной активностью обладали «вакцинные» серотипы: так, для 36,4% штаммов серотипа 23F; 23,3% штаммов из серогруппы 19; 17,6% штаммов серотипа 14 и 50 % культур серотипа 7F была характерна IgA протеиназная активность 0,5 усл.ед. и выше. Но в то же время 25% культур невакцинного серотипа 16 F характеризовались высокой степенью IgA-протеиназной активности, что свидетельствует о выраженной вирулентности данных штаммов. Ранжирование серотипов пневмококков по IgA протеазной активности показало, что все штаммы серотипов 23 F и 14 обладали способностью к секреции IgA протеаз: 36,4% культур серотипа 23 F были с высокой и 63,6% изолятов со средней активностью IgA протеаз. Для 23,3% лизатов серогруппы 19 A/F была характерна IgA протеазная активность 0,5 усл.ед и выше; для 67,4% лизатов- средняя степень активности IgA протеиназ. 17,6% пневмококков серотипа 14 обладали высокой степенью и 82,4% средней активностью IgA протеиназ. Анализ выраженности активности IgA протеиназ в зависимости от серотиповой принадлежности выявил, что у детей раннего возраста (0-2 года) редко регистрировались пневмококки с высокой активностью протеиназ. Доминировали серотипы, обладающие IgA протеиназной активностью слабой (43,2%) и средней степени (44,7%). Высокая активность протеиназ обнаружена у 11,9% штаммов и была характерна для серотипов 19F (37,5%); 14 (25,0%); 7F, 16F , 23F (по 12,5%) Из носоглотки детей 2-5 лет выделены пневмококки, обладающие слабой (51,06%) и средней (31,9%) IgA протеиназной активностью. Доля штаммов с активностью IgA протеиназ 0,5 ЕД и выше составила 17,02%. Высокой IgA-протеиназной активностью обладали 56,25% штаммов серотипа 19F. Удельный вес пневмококков, принадлежащих к серотипам 7F, 14, 16F и 23F , составил 6,25%-12,5%. Анализ активности IgA протеиназ пневмококков, колонизирующих носоглотку детей старше 5 лет показал, что более половины изолятов обладали слабой протеолитической активностью (52,3%). Необходимо отметить, что к продукции IgA протеиназ 0,5 и более усл.ед. были способны 40 % штаммов серотипа 19F, 20% невакцинного серотипа 16 F.

Заключение. Пневмококковые инфекции - особый вариант взаимодействия бактерий и человека [11]. Формирование различных форм пневмококковой инфекции во многом обусловлено вирулентными свойствами микроорганизма. Механизмы инвазии пневмококков в эпителий различных отделов респираторного тракта окончательно не выяснены, очевидно, значительную роль в этих процессах играют пневмококковые белки с протеолитической активностью. Секреторный IgA (sIgA) является одним из важных компонентов иммунологической защиты слизистой оболочки респираторного тракта. Секреторные антитела в сочетании с антибактериальным действием лактоферрина, лактопероксидазы, лизоцима и антимикробных пептидов играют важную роль в реализации антиинфекционного иммунного ответа. Антитела SIgA и SIgM служат первой линией гуморальной защиты макроорганизма в слое слизистого секрета муцина .

Согласно данным проведенного исследования, серотиповой пейзаж назофарингеальных пневмококков отличается большим разнообразием. Охват серотипового состава циркулирующих пневмококков пневмококковыми вакцинами составил 86,7%-88%. Но необходимо проведение постоянного серомониторинга пневмококков, что позволит отслеживать смену серотипового состава и оценивать эффективность применения пневмококковых вакцин в регионе. Назофарингеальные пневмококки, персистирующие у детей-бактерионосителей, обладают IgA-протеиназной активностью различной степени. Высокая продукция IgA1-протеаз более характерна для вакцинных штаммов *S. pneumoniae*. Таким образом, полученные данные, позволяют говорить о важной адаптивной роли пневмококковых IgA1-протеаз в качестве детерминанты вирулентности.

Список использованной литературы:

1. García-Rodríguez JA, Fresnadillo Martínez MJ. Dynamics of nasopharyngeal colonization by potential respiratory pathogens. *J Antimicrob Chemother.* 2002 Dec;50 Suppl S2:59-73. doi: 10.1093/jac/dkf506
2. Christopher D. Pericone, Karin Overweg, Peter W. M. Hermans, Jeffrey N. Weiser inhibitory and bactericidal effects of hydrogen peroxide production by *Streptococcus pneumoniae* on other inhabitants of the upper respiratory tract. *Infection and Immunity* Jul 2000, 68 (7) 3990-3997. doi: 10.1128/IAI.68.7.3990-3997.2000
3. Camelo-Castillo A, Henares D, Brotons P, et al. Nasopharyngeal Microbiota in Children With Invasive Pneumococcal Disease: Identification of Bacteria With Potential Disease-Promoting and Protective Effects. *Front Microbiol.* 2019; 10:11. doi:10.3389/fmicb.2019.00011
4. Dunne E.M., Murad C., Sudigdoadi S., Fadlyana E., Tarigan R. et al. Carriage of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, and *Staphylococcus aureus* in Indonesian children: A cross-sectional study. *PLoS One.* 2018 Apr 12;13(4):e0195098. doi: 10.1371/journal.pone.0195098. eCollection 2018.

5. Simell B.1., Auranen K., Käyhty H., Goldblatt D., Dagan R., O'Brien K.L. The fundamental link between pneumococcal carriage and disease.// *ExpertRevVaccines*. 2012. Vol.11.- n.7.-P.841-855.
6. Reshetnikova I. D., Bayazitova L.T., Tupkina O. F., Tyurin Y.A., Shamsutdinov A.F., Kadkina V., Rizvanov A.A. Characteristics of antibiotic resistance nasopharyngeal strains of *Streptococcus pneumoniae* in children suffering from respiratory pathologies. *BioNanoScience*. 2017. T. 7. №1, p. 182-185.
7. Bayazitova L.T., Tyupkina O.F., Chazova T.A., Tyurin Y.A., Isaeva G.S., Zaripova A.Z., Patyashina M.A., Avdonina L.G., Yuzlibaeva L.R. Communityacquired pneumonia pneumococcal etiology and microbiological aspects of nasopharyngeal carriage in children in the Republic of Tatarstan // *Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet*, 2017, vol. 7, no. 3, pp. 271–278. doi: 10.15789/2220-7619-2017-3-271-278
- 8 МР 4.2.0114-16. Лабораторная диагностика внебольничной пневмонии пневмококковой этиологии. М.,2016 г
9. Pai R, Gertz R. E., Beall B. Sequential multiplex PCR approach for determining capsular serotypes of *Streptococcus pneumoniae* isolates. *J Clin Microbiol*. 2006. 44(1). P. 124-31.
10. Патент РФ № 2426126. Способ определения IgA-протеиназной активности /Тюрин Ю.А., Фассахов Р.С., Мустафин И.Г., Баязитова Л.Т.//Бюл. изобр. №22 от 10.08.2011.
11. de Stoppelaar SF, Bootsma HJ, Zomer A, Roelofs JJTH, Hermans PWM, et al. (2013) *Streptococcus pneumoniae* Serine Protease HtrA, but Not SFP or PrtA, Is a Major Virulence Factor in Pneumonia. *PLoS ONE* 8(11): e80062. doi:10.1371/journal.pone.0080062

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ НЕИНВАЗИВНЫХ ПНЕВМОКОККОВ К ФАГОВЫМ ПРЕПАРАТАМ

Баязитова Л.Т.^{1,2}, Тюпкина О.Ф.¹, Чазова Т.А.¹, Анамов Р.И.², Калимуллина А.Д.²

COMPARATIVE ANALYSIS OF SENSITIVITY OF NON-INVASIVE PNEUMOCOCCUS TO PHAGE DRUGS

Bayazitova L.T. 1,2, Tyupkina O.F.1, Chazova T.A. 1, Anamov R.I. 2, Kalimullina A.D. 2

- 1- *ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора, Россия, Казань*
2- *ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации.*

3- Пневмококки-условно-патогенные бактерии; являются компонентом нормобиоценоза носоглотки, но в ряде случаев становятся возбудителями пневмококковых инфекций (ПИ). Наиболее распространенное заболевание у детей дошкольного возраста-острый средний отит (ОСО); и одним из этиологически значимых возбудителей ОСО является *Streptococcus pneumoniae*. У ряда пациентов наблюдается контаминация пневмококками нескольких биотопов- носоглотки , конъюнктивы глаза и среднего уха. Выбор антимикробного средства для элиминации возбудителя - серьезная задача. В эпоху антибиотиков фаготерапия бактериальных инфекций отступила на второй план; но в последнее время, на фоне глобального роста антибиотикорезистентности, к фаготерапии вновь появляется повышенный интерес. Фаговые препараты обладают рядом преимуществ: а) способны бороться с антибиотикоустойчивыми штаммами бактерий, не влияя на нормальную микробиоту; б) могут применяться в комбинации со многими лекарственными препаратами; в) способны оказывать иммуностимулирующее действие. Фаги обладают высокой специфичностью по отношению к патогенным и условно-патогенным бактериям. Для обеспечения терапевтического эффекта от применения фаговых препаратов необходимо придерживаться основного требования-бактериофаги должны быть вирулентными.

Цель исследования: оценка профиля чувствительности изолятов, выделенных у лиц -носителей *Streptococcus pneumoniae*, к антимикробным препаратам и к моно- и поливалентным бактериофагам.

Материалы и методы.

1. *Бактериологическое исследование.* Биоматериал высевали на плотные питательные среды Columbia agar Base («Conda», Испания) с добавлением 5% крови. Посевы инкубировали в CO₂ – инкубаторе 24 часа. Фенотипическую идентификацию *S. pneumoniae* проводили на основании морфологических, культуральных данных. Для дифференциальной диагностики использовали оптохиновый тест, лизис в присутствии солей желчи. Для серологической диагностики применяли латекс-агглютинацию «Slidex Pneumo-Kit», («bioMerieux», Франция); постановку реакции Нейфельда с пневмококковой антисывороткой OMNI (SSI Omni serum, Statens Serum Institut)

2. *Тестирование антибиотикорезистентности и интерпретацию* результатов проводили согласно Клиническим рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам (версия 2015), EUCAST (2015 г.). Для скрининга пенициллинчувствительности использовали диск с оксациллином 1 мкг («bioMerieux», Франция). Профиль чувствительности к макролидам, фторхинолонам и ко-тримоксазолу изучали диско-диффузионным методом; для оценки чувствительности к β-лактамам использовали E-тесты (HiComb MIC Test, «Himedia»). Минимальную подавляющую концентрацию (МПК) пенициллина и амоксициллина определяли методом E-теста. Чувствительными считали изоляты с МПК ≤0,6 мкг/мл, нечувствительными к пенициллину – штаммы с МПК ≥0,06 мкг/мл.

3. . *Определение чувствительности к бактериофагам* проводилось скрининговым методом (спот-тест). В исследование включены бактериофаги: Стрептококковый бактериофаг (Серии П81; П15; П 89; П10), Секстафаг (П 73), Пиобактериофаг поливалентный (У 59; У 66); (НПО «Микроген», Россия).

Результаты. В исследование включено 152 штамма неинвазивных пневмококков. Ранжирование АМП по антипневмококковой активности в порядке убывания позволило распределить их в таком порядке: β -лактамы (амоксциллин, цефтриаксон - по 84,8%) >Линезолиды (клиндамицин-78,3%)>фторхинолоны (левофлоксацин71,7%)>макролиды > Ко-тримоксазол (68,2%).

Скрининг фагочувствительности показал, что литическая активность фаговых препаратов в отношении пневмококковых изолятов достаточно высокая и варьирует в зависимости от применяемой серии препарата: Секстафага (П-73) – 92,61%; Бактериофага стрептококкового Серия П10-99,4%; П 15-98,6%; П89 – 95,72%; П81-94,82%. Выявлена низкая активность пиофага (серии У59 и У 66)-преобладающее большинство пневмококковых изолятов были устойчивы к действию данных препаратов: 99,4% не лизировались пиофагом (У 59) и 98,6% - препаратом серии У 66.

Заключение. Моновалентный бактериофаг (стрептококковый бактериофаг) достаточно эффективен в отношении штаммов *S. pneumoniae*, следовательно, может применяться в качестве альтернативного антибактериального препарата и ,что особенно важно, для успешной элиминации антибиотикорезистентных бактерий. Результаты скрининга фаголизательности пневмококков секстафагом позволяют рекомендовать данный фаговый препарат для фаготерапии и фагопрофилактики. Низкая активность пиофага требует тщательного изучения. Согласно инструкции производителя, Пиобактериофаг поливалентный очищенный представляет собой смесь стерильных очищенных фильтратов фаголизатов бактерий-- *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Proteus spp.*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. Coli*. Препарат должен лизировать бактерии в разведении не менее 10^{-5} для бактерий рода *Streptococcus*.

Применение бактериофагов должно основываться на рациональных принципах. Необходимо помнить, что умеренные бактериофаги играют существенную роль в эволюции бактерий, способствуя приобретению возбудителями факторов вирулентности и антибиотикорезистентности. В связи с этим, бактериофаги, применяемые для фаготерапии и фагопрофилактики инфекционных заболеваний, должны быть исключительно вирулентными. Для обеспечения выбора эффективного средства литическая активность бактериофага должна быть предварительно протестирована *in vitro* в микробиологической лаборатории.

**ПРОФИЛЬ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ И ГЕНОТИПЫ
НЕВАКЦИННЫХ СЕРОТИПОВ STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE С
МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ, ВЫДЕЛЕННЫХ
В РОССИИ, 2010 - 2017**

Бржозовская Е.А.,¹ Алябьева Н.М.,² Лазарева А.В.,² Маянский Н.А.¹

***ANTIBIOTIC RESISTANCE PROFILE AND GENOTYPES OF
NONVACCINAL STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE SEROTYPES WITH
MULTIPLE DRUG RESISTANCE, ISOLATED IN RUSSIA, 2010 – 2017
Brzhozovskaya E.A., 1 Alyabyeva N.M., 2 Lazareva A.V., 2 Mayansky N.A. 1***

¹ РДКБ ФГАОУ ВО РНИМУ им Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

² ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, Москва, Россия

Пневмококки (*Streptococcus pneumoniae*) - ведущая этиологическая причина инфекционной заболеваемости и смертности, особенно среди таких групп риска как дети младшего возраста, пожилые люди и лица с хроническими заболеваниями. Спектр пневмококковых инфекций варьирует от местных мукозальных процессов (синуситы, острый средний отит, пневмония) до системных, нередко жизнеугрожающих состояний, включая менингит, бактериемию и сепсис.

Профилактика пневмококковых инфекций при помощи пневмококковых конъюгированных вакцин (ПКВ) значительно уменьшила частоту тяжелых инвазивных пневмококковых инфекций (ИПИ). Параллельно со снижением ИПИ, ассоциированных с *S. pneumoniae* вакцинных серотипов, происходит появление и распространение ряда пневмококковых клонов, обладающих невакцинными серотипами, встречающихся ранее относительно редко. Нарастающая устойчивость пневмококков к антимикробным препаратам (АМП), используемым для эмпирической терапии пневмококковых инфекций, остается серьезной проблемой. Многие резистентные пневмококки характеризуются фенотипом множественной лекарственной устойчивости (МЛУ), т.е. обладают резистентностью к трем и более группам АМП. В связи с этим, актуальной задачей для выработки мер по нейтрализации угрозы дальнейшего роста устойчивости пневмококков и получения данных о циркулирующих серотипах *S. pneumoniae* необходимо проведение эпидемиологического мониторинга.

В исследовании не-ПКВ13-МЛУ-пневмококки были отобраны из коллекции носоглоточных изолятов, полученных из 5 городов России, в 2010-2017 гг. Чувствительность к десяти группам АМП определяли методом серийных разведений с использованием планшетов Sensititre (Thermo Fisher) в соответствии с рекомендациями EUCAST-2018. Серотипирование и генотипирование проводили с использованием

сывороток Statens Serum Institute (Дания) и мультилокусного сиквенс-типирования (МЛСТ) соответственно.

Из 2174 изолятов *S. pneumoniae*, (n=478; 22%) характеризовались профилем множественной лекарственной устойчивости и были представлены 24 серотипами, из которых 44 изолята были носителями 16 различных не-ПКВ13-серотипов. Подавляющее большинство не-ПКВ13-пневмококков (n=25; 57%) было представлено серотипами 11А, 13, 23А и 28F.

При помощи процедуры МЛСТ было выявлено 23 сиквенс-типа (СТ) среди не-ПКВ13-МЛУ-пневмококков, пять из которых (14416, 14599, 14692, 14693 и 14694) были описаны впервые. Так, МЛУ-пневмококки серотипа 23А были представлены СТ338 (n=5), СТ42 (n=1), СТ166 (n=1) и СТ4726 (n=1), типичными для этого серотипа, а 5 из 6 28F-пневмококков были ассоциированы с характерным СТ546. Изоляты серогруппы 35 преимущественно были связаны с СТ5972 (n=2) и его однолокусным вариантом СТ14694 (n=4). Изоляты серотипа 11А были распределены между сиквенс-типами СТ8605 (n=2), его однолокусным вариантом СТ14416 (n=1), СТ62 и СТ4661 (n=1 каждый).

Наиболее распространенным фенотипом устойчивости не-ПКВ13-МЛУ-пневмококков была комбинация нечувствительности к эритромицину, клиндамицину, тетрациклину и/или триметоприм/сульфаметоксазолу. Резистентность к β-лактамам антибиотикам наблюдалась лишь у двух сиквенс-типов 81 (серотип 6С) и 166 (серотип 23А), связанных с глобальными Пен-резистентными клонами Spain23F -1 и Spain9V -3 соответственно. МЛУ-*S. pneumoniae* серотипа 35С нового СТ14694 были дополнительно устойчивы к хлорамфениколу.

Отсутствием типичной связи генотип-серотип выделялись не-ПКВ13-МЛУ-пневмококки наиболее распространенного в нашей выборке СТ2754 (n=8; 18%), а также пневмококк Sp1880 серотипа 15А с новым СТ14599. Этот сиквенс-тип являлся двулокусным вариантом СТ276, который ассоциируется с серотипами 19А/19F, но не с 15А, и последующий анализ доказал, что Sp1880 серотипа 15А СТ14599 появился благодаря переключению капсулы у пневмококка серотипа 19А СТ276.

Таким образом, основная масса МЛУ-пневмококков, собранных за восьмилетний период имела ПКВ-13-серотип. Среди детектированных не-ПКВ13-МЛУ-пневмококков, лидирующими были изоляты серотипов 11А, 13, 23А и 28F, которые обладали МЛУ-генотипом и потенциалом для последующего замещения вакцинных клонов пневмококков. Наиболее частый профиль резистентности среди не-ПКВ13-серотипов МЛУ-*S. pneumoniae* обнаруживался для эритромицина, клиндамицина, тетрациклина и/или триметоприм/сульфаметоксазола.

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ ЖЕЛЕЗА НА РОСТ И ФОРМИРОВАНИЕ БИОПЛЕНОК БАКТЕРИЯМИ РОДА *LACTOBACILLUS*

Бруслик Н.Л.^{1,2}, Салахутдинова А.И.¹, Яруллина Д.Р.¹

INFLUENCE OF IRON IONS ON THE GROWTH AND FORMATION OF BIOFILMS BY BACTERIA OF THE GENUS LACTOBACILLUS

Bruslik N.L. 1,2, Salakhutdinova A.I. 1, Yarullina D.R. 1

¹ ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский)
федеральный университет», г. Казань

² ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии», г. Казань

Железо является одним из важнейших элементов, обеспечивающих протекание основных биологических процессов в клетках. Общеизвестно, что у позвоночных животных присутствие железа в организме необходимо для транспорта кислорода к органам и тканям, энергетического метаболизма, а также нормального функционирования иммунной системы [1, 2]. Вместе с тем, наличие доступного железа в организме связано с повышенным риском развития бактериальных инфекций [3]. Для многих патогенных микроорганизмов ионы железа являются необходимым фактором, отвечающим за формирование биопленок, что увеличивает их колонизационную активность. В частности, такое влияние железа продемонстрировано для ряда кишечных патогенов, например, *Campylobacter jejuni*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* [4, 5]. Бактерии рода *Lactobacillus*, напротив, отличаются низкой потребностью в данном элементе в виду отсутствия гем-содержащих компонентов в составе их клеток. Тем не менее, у лактобацилл описаны кластеры генов, отвечающих за аккумуляцию железа [6]. Вероятно, лактобациллы способны связывать ионы железа, снижая тем самым их биодоступность для патогенных микроорганизмов. Кроме того, известно, что лактобациллы, формируя биопленки на стенках кишечника, способствуют повышению колонизационной резистентности желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) [7]. Тем не менее, роль железа в формировании биопленок клетками лактобацилл до настоящего времени практически не изучена.

Целью данной работы является анализ способности лактобацилл к сорбции железа из раствора, а также выяснение влияния железа на рост и интенсивность формирования биопленок клетками лактобацилл.

Объектами исследования служили 10 штаммов *Lactobacillus* sp., полученные из Немецкой коллекции микроорганизмов и культур клеток (Институт Лейбница) и выделенные из кисло-молочных продуктов и пробиотических препаратов. Видовую принадлежность исследуемых лактобацилл определяли с помощью MALDI-TOF масс-

спектрометрии на анализаторе Maldi BioTyper (Bruker Daltonics, Германия). Для выявления сорбирующей активности лактобацилл по отношению к ионам железа проводили инкубацию бактериальных клеток в растворе FeCl_3 , после чего определяли остаточные количества железа в растворе колориметрическим методом с сульфосалициловой кислотой [8]. Анализ влияния железа на рост лактобацилл и их способность к формированию биопленок осуществляли при культивировании бактерий в 96-луночных полистироловых планшетах на жидкой питательной среде MRS с добавлением различных концентраций FeCl_3 . О росте микроорганизмов судили на основании изменения оптической плотности (ОП) засеянной среды при длине волны 600 нм. Интенсивность формирования биопленок клетками лактобацилл оценивали с помощью их окрашивания красителем кристаллическим фиолетовым [9].

Полученные результаты показали, что 5 из 10 исследованных штаммов лактобацилл были способны эффективно сорбировать железо из раствора. Снижение концентрации железа в растворе при этом составило от 38 до 54 %. Наибольшая сорбционная активность была обнаружена у бактерий *L. plantarum* 8РАЗ, выделенных из пробиотического препарата «Лактобактерин сухой». Эти бактерии удаляли из раствора более половины содержащегося в нем железа. Добавление FeCl_3 в питательную среду не оказывало существенного воздействия на характер роста исследуемых микроорганизмов. По данным литературы, внесение в питательную среду FeCl_3 аналогично не вызывало изменений в ростовой активности лактобацилл, однако наличие в питательной среде гемсодержащих соединений (гематина, миоглобина и гемоглобина) приводило к увеличению продолжительности стационарной фазы роста микроорганизмов [10]. При исследовании формирования биопленок клетками лактобацилл нами было установлено, что наиболее выраженная способность к образованию пленок была характерна для штамма *L. rhamnosus* ВВ, выделенного из питьевого йогурта «Bio Баланс» (ОАО Юнимилк). Примечательно, что данный штамм также являлся единственным, у которого было отмечена выраженная стимуляция формирования биопленок в ответ на присутствие ионов железа в питательной среде. Особенно отчетливо данная закономерность наблюдалась при максимальной концентрации FeCl_3 , составлявшей 1000 мкМ, и времени инкубации микроорганизмов 72 часа. Таким образом, очевидно, что некоторые штаммы *Lactobacillus* sp. способны использовать железо для повышения своей колонизационной активности. Вероятно, данное свойство лактобацилл зависит от их изначальной способности к формированию биопленок, а также определяется количеством присутствующего железа в окружающей среде. При этом результаты исследования не позволяют однозначно установить связь между интенсивностью аккумуляции железа лактобациллами и их способностью к образованию бактериальных пленок.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы повышения конкурентоспособности Казанского федерального университета и Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ 17-00-00456).

Список использованной литературы:

1. Abbaspour N., Hurrell R., Kelishadi R. Review on iron and its importance for human health // J Res Med Sci. 2014. V. 19(2). P. 164-174.
2. Ward R.J., Crichton R.R., Taylor D.L., Corte L.D., Srai S.K., Dexter D.T. Iron and the immune system // J Neural Transm. 2011. V. 118(3). P. 315-328.
3. Skaar, E.P. The battle for iron between bacterial pathogens and their vertebrate hosts // PLoS Pathog. 2010. V. 6(8). e1000949.
4. Oh E., Andrews K.J., Jeon B. Enhanced biofilm formation by ferrous and ferric iron through oxidative stress in *Campylobacter jejuni* // Front Microbiol. 2018. V. 9. P. 1204.
5. Weinberg E.D. Suppression of bacterial biofilm formation by iron limitation // Med Hypotheses. 2004. V. 63(5). P. 863-865.
6. Imbert M., Blondeau R. On the iron requirement of lactobacilli grown in chemically defined medium // Curr Microbiol. 1998. V. 37(1). P. 64-66.
7. Salas-Jara M.J., Ilabaca A., Vega M., García A. Biofilm forming *Lactobacillus*: new challenges for the development of probiotics // Microorganisms. 2016. V. 4(3). P. 1-14.
8. ГОСТ 10555-75 Реактивы и особо чистые вещества. КолOMETрические методы определения содержания примеси железа / Межгосударственный стандарт. М.: Стандартинформ, 2006. 12 с.
9. Jones S.E., Versalovic J. Probiotic *Lactobacillus reuteri* biofilms produce antimicrobial and anti-inflammatory factors // BMC Microbiol. 2009. V 9 (35). P. 1-9.
10. Duhutrel P., Bordat C., Wu T.D., Zagorec M., Guerquin-Kern J.L., Champomier-Verges M.C. Iron sources used by the nonpathogenic lactic acid bacterium *Lactobacillus sakei* as revealed by electron energy loss spectroscopy and secondary-ion mass spectrometry // Appl Environ Microbiol. 2010. V. 76(2). P. 560-565.

СПОСОБНОСТЬ К ФОРМИРОВАНИЮ БИОПЛЕНОК У РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ ГРИБОВ РОДА *FUSARIUM*

Валиева Р.И.^{1,2}, Лисовская С.А.^{1,2}

CAPACITY TO FORMATION OF BIOFILMS IN DIFFERENT STRAINS OF FUNGI OF THE GENUS *FUSARIUM*.

Valieva R.I. 1,2, Lisovskaya S.A. 1,2

¹ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и
микробиологии» Роспотребнадзора, Казань, Россия

²ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», Казань,
Россия

Введение.

В структуре кожной патологии грибковые поражения кожи продолжают занимать лидирующее положение: по разным данным на долю микозов приходится от 37 до 42% всех заболеваний кожи. В последние годы возникают сложности в диагностике данных инфекционных агентов, так как рост отдельных планктонных клеток микромицет в питательной среде существенно отличается от их способа существования в естественных условиях, в том числе в организме человека. Планктонные формы обычно встречаются транзиторно и в минимальном количестве, тогда как микробные сообщества образуют биопленки. Биопленка состоит из непрерывного слоя клеток, плотно прикрепленных друг к другу и заключенных в экзополимерный матрикс. Биопленкообразование считается важным фактором вирулентности. В большинстве исследований оценка биопленкообразующей активности у грибов проводили на дрожжевых или дрожжеподобных грибах, однако мало изучена активность образования биопленки мицелиальных грибов, в том числе *Fusarium spp.*

Большинство представителей мицелиальных грибов рода *Fusarium* известны своими фитопатогенными свойствами. В связи с этим, *Fusarium spp.*, выделенные из микробиологических посевов, ранее расценивались как контаминанты, а не как потенциальные возбудители. Первый случай инфицирования человека грибами рода *Fusarium* был зарегистрирован в 1958 г. и связан с механическим повреждением слизистой глаза. С тех пор в литературе появляются сведения о способности данных микромицетов вызывать широкий спектр инфекций, преимущественно у людей с ослабленным иммунитетом. К тому же, приблизительно 80 % всех инфекций у человека вызваны представителями видовых комплексов *F. solani* и *F. oxysporum*.

Цель исследования.

Изучение биопленкообразующей активности грибов рода *Fusarium* (*F. solani* и *F. oxysporum*), выделенных с кожных покровов пациентов.

Материалы и методы.

Для исследования были отобраны грибы *F. solani* (n = 18) и *F. oxysporum* (n = 20) от пациентов, обратившихся в лабораторию микологии ФБУН «Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора. Посев проводили на питательную среду Сабуро (HiMedia, Индия). Выделенные штаммы идентифицировали по основным микроскопическим и биохимическим критериям, учитывая морфологические особенности видов, а также выявление таксономической принадлежности с помощью молекулярно-генетической идентификации с использованием рибосомных генов (18S рДНК). Формирование биоплёнок грибов проводили по методу Pierce CG и соавт. [13] в 96 - луночных плоскодонных полистироловых планшетах (SPL Life Sciences, Корея). Готовую суспензию микроконидий собирали в стерильную пробирку с помощью заливки чашек 5 мл фосфатного буфера (PBS), содержащего 0,025% Твин - 20. Затем культуры ресуспендировали в RPMI с конечной плотностью $1,0 \times 10^6$ клеток/мл, что соответствует 0,5 MF (измерение денситометром согласно данным изготовителя стандартов мутности bioMerieux). Затем, по 150 мкл суспензии добавляли в лунки планшета, инкубировали

при 30°C. В качестве суммарного показателя величины биопленки, отражающего содержание самих микроорганизмов и экзополисахаридного матрикса, использовали биомассу биопленки, определенного колориметрическим способом. Культуры грибов инкубировали 20 мин с добавлением 125 мкл 1% экстракта Cristal Violet (CV). Оптическую плотность элюатов CV/этанол определяли при длине волны 620.

Результаты и выводы.

Был проведен сравнительный анализ динамики связывания экстракта Cristal Violet с штаммами *F. solani* и *F. oxysporum* в составе биопленок. Диапазон значений оптической плотности полученной биомассы варьировал от 0,172 до 1,111 ед. Процесс образования биопленки у грибов *Fusarium spp.*, в зависимости от вида, различался. Выявлено, что наиболее высокой способностью накапливать биомассу обладали *F. solani*, по сравнению с *F. oxysporum* ($p = 0,023$). Средние значения оптической плотности биопленок у *F. solani* составило $0,677 \pm 0,038$, что существенно выше, чем у *F. oxysporum* ($OD_{620} = 0,487 \pm 0,006$). В начальные сроки исследования, микромицеты *F. solani* интенсивно образовывали биомассу, максимум которого приходилось на 5 сутки ($OD_{620} = 1,015 \pm 0,051$), после чего значения оптической плотности экстракта Cristal Violet стабилизировались. Для *F. oxysporum* было характерно равномерное производство биомассы, максимум которого отмечалось на 7 день инкубации ($OD_{620} = 0,625 \pm 0,11$), далее биопленки *F. oxysporum* так же стабилизировались. К тому же, 37,5% штаммов, демонстрирующие активную способность к формированию биопленок, были выделены от пациентов с длительным течением инфекционного процесса. Можно предположить, что биопленки являются одним из патогенетических факторов формирования хронических инфекционных процессов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ЛЕЧЕНИЯ ПРИ СОЧЕТАННОМ ПРИМЕНЕНИИ НИСОМАЛЬНЫХ ЭНДОГЕННЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ И ФОТОТЕРАПИИ НА МИКРОБНУЮ ПЛЁНКУ ПАРОДОНТА

Гоптарева, Е.А., Базиков И.А., Зеленский В.А.

RESULTS OF RECOVERY TREATMENT WITH THE COMBINED APPLICATION OF NIOSOMAL ENDOGENIC ANTIMICROBIAL PEPTIDES AND PHOTOTHERAPY ON THE MICROBIAL FILM OF THE PERIODONT

Goptareva, E.A., Bazikov I.A., Zelensky V.A.

Ставропольский государственный медицинский университет, г.Ставрополь

Актуальность. Ранее проведённые исследования показали, что целевая доставка, полученных при инкапсулировании пептидов и других биологически активных соединений в ниосомы кремнийорганической природы, повышает эффективность наружного лечения [1,2,6-12]. Использование наногелей с регенеративным и антимикробным эффектом – новая тенденция в лечении поражений слизистой оболочки полости рта и краевой периодонтальной ткани [3-5]. Инкапсулированные наружные формы, содержащие низкомолекулярные пептиды, имеют выраженный эффект за счёт разнонаправленного регенераторного и антимикробного действия. Целью исследования явилось изучение антимикробной и регенераторной активности ниосомального стоматологического геля в комбинации с фототерапией.

Материалы и методы исследования. Проведено исследование антимикробных свойств ранозаживляющего геля у пациентов с поражениями слизистой оболочки полости рта и краевой периодонтальной ткани. Ниосомальный гель применялся у 100 пациентов с информированным согласием: 40 мужчин и 60 женщин в возрасте от 30 до 80 лет. Материалом для лабораторно-диагностических исследований служил экссудат зубодесневой борозды (ЗДБ), полученный при обследовании пациентов (средний показатель индекса РМА – $12 \pm 0,9\%$). Из числа пациентов были сформированы контрольная и две группы наблюдений. Первая группа с повреждениями слизистой оболочки полости рта, а вторая группа с заболеваниями пародонта. Контроль гигиенического состояния полости рта проводился стандартно с помощью гигиенического индекса. Местная антимикробная терапия в третьей основной группе, состоящей из двух подгрупп - «А» и «Б» по 30 человек в каждой, сопровождалась введением в пародонтальные карманы больных обеих подгрупп один раз в день разработанного нами ниосомального геля с инкапсулированными пептидами: на 30 минут. Десна тщательно изолировалась от слюны. Кроме этого, в третьей «Б» подгруппе дополнительно с интервалом в 2 дня проводили 2 процедуры антибактериальной лазерной фотодинамической терапии (АЛФТ), во время которой пародонтальные карманы были предварительно обработаны фотосенситизатором «HELBO BLUE Pphotosensitaiser» диодного лазера «HELBO» 2075 F/Theralite в течение 2 минут.

Пациентам всех групп в схему лечения также включали проведение физиотерапевтической процедуры – дарсонвализации тихим разрядом в течение 10 минут на каждую челюсть. Физиопроцедуры проводились ежедневно, общее количество сеансов – 10. Эффективность лечебных мероприятий у пациентов с различными формами пародонтита оценивали по сокращению сроков лечения, исчезновению мягкого налета на зубах, отсутствию гиперемии и отека слизистой оболочки полости рта, прекращению кровоточивости, удлинению периодов ремиссии. Повторные осмотры пациентов проводили непосредственно после лечения, а также через 6 и 12 месяцев после первоначального лечения. Показатели исследования обрабатывали методом однофакторного дисперсионного анализа и двустороннего критерия Стьюдента в

программе Primer of Biostatistics 4-03 для Windows. Достоверными считали отличия при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. Изучали микробиологический статус у больных с повреждениями слизистых оболочек и заболеваниями пародонта после лечения разработанным гелем. У пациентов частота выявления носительства пародонтопатогенных видов составила 37,8%, при этом у 62,2% лиц не было выявлено ни одного вида пародонтопатогенной микрофлоры.

У пациентов с повреждениями слизистых и заболеваниями пародонта после лечения ниосомальным гелем число анаэробных пародонтопатогенных бактерий в биопленке ЗДБ не превышало пороговые диагностические показатели, но, по сравнению с количественными параметрами пациентов контрольной группы, было увеличено в 1,01-1,07 раза. Наименьшее количество среди анаэробной пародонтопатогенной микрофлоры в биопленке ЗДБ составляло *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ($3,56 \pm 0,16 \lg \text{CFU}$); наибольшее – *Porphyromonas gingivalis* ($4,19 \pm 0,20 \lg \text{CFU}$) и *Prevotella intermedia* ($4,34 \pm 0,21 \lg \text{CFU}$). Состав резидентной микрофлоры биопленки ЗДБ имел разнонаправленную динамику: по отношению к количественным показателям пациентов контрольной группы, минимальный прирост *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis* (1,03-1,04 раза) сочетался с выраженным снижением *Peptostreptococcus anaerobius* (1,44 раза) и *Veillonella parvula* (1,19 раза).

Эти данные свидетельствовали о значительном снижении резидентной и пародонтопатогенной микрофлоры в биоплёнке десневой борозды после лечения ниосомальным гелем. Антимикробная активность ниосомальных препаратов при их местном применении на слизистой оболочке полости рта в стоматологической практике объяснялась непосредственным действием самих ниосом кремнийорганической природы. Ниосомы взаимодействовали с плазматическими мембранами микроорганизмов, увеличивая их проницаемость для низкомолекулярных веществ, что приводило к их гибели при набухании и разрывам вследствие изменения внутриклеточного осмотического давления.

Сочетанное использование ниосомального геля и лазерной фотодинамической терапии позволяло достигнуть стойкой ремиссии у 100% больных хроническим генерализованным пародонтитом через 6 месяцев и у 90% больных - через 12 месяцев после лечения.

Выводы: В результате исследований отмечено значительное снижение резидентной и пародонтопатогенной микрофлоры в биоплёнке десневой борозды после лечения ниосомальным гелем. Клиническая эффективность ниосомального геля при лечении хронического генерализованного пародонтита средней степени тяжести значительно превосходила действие традиционных средств в контрольной группе.

Литература:

1. Базиков И.А., Омелянчук П.А. Сыворотка «Регенерин» для наружного применения противовоспалительным и регенерирующим эффектом. Патент на изобретение RUS 2469704 от 20.12.2012.
2. Базиков, И. А. Способ трансдермального переноса активных субстанций с использованием ниосом на основе ПЭГ-12 диметикона. Патент на изобретение RUS 2539396 от 29.08.2014.
3. Базиков И.А., Кариков К.Г., Сеираниду З.А. Стоматологический гель с ниосомами для лечения воспалительных и дистрофических заболеваний пародонта. Патент на изобретение RUS 2582290 от 30.03.2016.
4. Dolgalev A., Bazikov I., Zelensky V. The use of wound healing gel "Regenerin" in dental practice. In: Proceedings of International workshop on advanced functional nanomaterials-4th edition. 2017, ISBN No: 9789352792313. Pages 16-20.
5. Зеленский В.И., Базиков И.А., Долгалев А.А. Разработка геля ранозаживляющего «Регенерин» с использованием нановезикул кремнийорганической природы//в сборнике: Биотехнология: взгляд в будущее Материалы III международной научно-практической конференции. 2017. С. 42-45.
6. Bazikov I., Maltsev A., Selimov M., Korolkova V. Using niosome to improve the effectiveness of antitumor drug. International workshop on advanced functional nanomaterials (IWAN)-4th Edition. — 22–24 March 2017, 5 P.
7. Базиков И. А, Мальцев А. Н. Кремнийорганические ниосомы с бактерицидными и парамагнитными свойствами. Патент на изобретение RUS 2625722 от 18.07 2017.
8. Diskaeva E.I., Vecher O.V., Bazikov I.A., Vakalov D.S. Particle size analysis of niosomes as a function of temperature. Наносистемы: физика, химия, математика. Ставрополь 2018. Т. 9. № 2. С. 290-294.
9. Болатчиев А.Д., Батулин В.А., Базиков И.А. Антимикробный гель для лечения инфицированных ран, ожогов и трофических язв. Патент на изобретение RUS 2655522 от 28.05.2018
10. Дискаева Е.И., Базиков И.А., Вечер О.В., Тимченко В.П., Селимов М.А., Оценка применимости фотометрического метода для определения размера везикул ниосомной дисперсии// Медицинский вестник Северного Кавказа. Ставрополь 2018. Т.13 ,№ 1. с. 108-110.
11. Diskaeva E.I., Vecher O.V., Bazikov I.A., Maltsev A.N. Dispersion analysis of niosomes different composition //Journal of Nanoparticle Research. 2019. Т. 21. № 1. С. 2049.
12. Хералова Н.И., Базиков И.А., Мальцев А.Н, Седых О.И., Батулин В.А., Рамеш К. Гоял, Мадху Гупта, Рубайло М.В., Гуров Д.Ю. Эффект синергии эндогенных антимикробных и низкомолекулярных плацентарных пептидов в составе ниосомального геля при лечении ожогов, инфицированных антибиотикорезистентными микроорганизмами // Волгоградский научно-медицинский журнал. 2020. № 4. С. 33-36.

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭНДОФИТНЫХ ГРИБОВ *ALOE VERA*

Депсинов Р.И., Абдульмянова Л.И.

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ENDOPHYTIC FUNGI ALOE VERA *Depsinov R.I., Abdul'myanova L.I.*

Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан, г. Ташкент

Возрастающее количество людей, погибающих от новых респираторных болезней: SARS, MERS, COVID-19 и последствий, связанных с ослаблением иммунной системы, вследствие увеличения резистентности патогенов к существующим препаратам, обуславливает поиск новых антибиотических соединений.

Неконтролируемое использование растущего числа разнообразных синтетических антибиотиков на сегодняшний день создало угрожающую во всем мире проблему множественной лекарственной устойчивости бактерий [1]. Примерами этой проблемы являются устойчивый к метициллину *Staphylococcus aureus* (MRSA), устойчивые к ванкомицину энтерококки и энтеробактерии (ESBL), продуцирующие бета-лактамазы [2, 3, 4].

Исследования показали, что 90% бактериальных штаммов устойчивы к препаратам первого выбора, в связи с чем, Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) призвала искать альтернативные антибактериальные средства.

Растительные метаболиты по-прежнему остаются наиболее важным источником для открытия новых и потенциальных лекарств. Однако, экстракция из растительных источников имеет ряд неудобств - сезонность, климатические условия, посевные площади.

Биотехнологическая ферментация различных микроорганизмов, в том числе и эндофитных, в качестве неистощимых и возобновляемых ресурсов, является альтернативным и весьма перспективным способом получения высокоценных биоактивных продуктов [5]. С 1981 по 2018 года, значительное количество натуральных препаратов получено именно из эндофитов [6, 7].

Эндофиты – это удивительно разнообразная, но относительно мало изученная группа микроорганизмов, составляющая ту часть микробиома растений, которая в отличие от эпифитов, обитает в эндосфере. Эндофиты состоят в незаметной ассоциации со своими растениями-хозяевами, не вызывая признаков заболевания. Они наделены способностью продуцировать соединения, аналогичные или идентичные растительным, а также новые ранее неизвестные биоактивные молекулы [8]. Все эти натуральные соединения из эндофитных микробов обладают огромным потенциалом в качестве источника новых лекарственных и сельскохозяйственных продуктов [9].

На протяжении столетий соединения растения *Aloe vera* используются во многих странах в традиционной медицине при лечении широкого ряда заболеваний в качестве лекарственных средств, обладающих различными терапевтическими свойствами: антимикробными, антиканцерогенными, антиоксидантными и другими. Существует более 300 различных типов алоэ, но лекарственными свойствами обладают лишь 5 из них: *Aloe Barbadosensis Miller*, *Aloe Perryi Baker*, *Aloe Ferox*, *Aloe Arborescens* и *Aloe Saponaria*. Наибольшее признание и применение получил *Aloe Barbadosensis Miller* или *Aloe vera*, произрастающий в сухом и жарком климате [10]. Именно таким климатом отличается Узбекистан.

В этой связи целью нашей работы явилось выделение эндофитных грибов из *Aloe vera*, произрастающих в республике, и изучение их антибактериального потенциала.

В результате исследований с применением модифицированных способов поверхностной стерилизации, было выделено 16 эндофитных изолята: 7 - из листьев, 9 из корней.

Ферментацией в течении 10 дней на качалке при 180 об/мин на стандартной среде Чапека-Докса была получена биомасса выделенных эндофитных изолятов для экстракции вторичных метаболитов из биомассы этилацетатом.

Полученные суммарные экстракты вторичных метаболитов проверяли на наличие антибактериальной активности против патогенных тест-культур: *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. subtilis* и *C. albicans* луночно-диффузионным методом.

В результате исследований установлено, что в целом эндофитные изоляты, выделенные из листьев *Aloe vera*, обладают почти в 1,5 раза большей антибактериальной активностью, чем изоляты корня ко всем исследованным тест-культурам.

Исключение составляет - *C. albicans*. Антибактериальная активность всех изолятов против данного патогена одинакова на уровне 13-16 мм.

Наибольшая зона подавления роста обнаружена у эндофитов листьев против *S. aureus* на уровне 30-48 мм. Полученные данные требуют дальнейшего детального изучения антибактериальной активности выделенных эндофитных грибов *Aloe vera*, в том числе и против MRSA штаммов.

Список использованной литературы

1. Lu C. H. and Shen Y. M. A novel ansamycin, naphthomycin K from *Streptomyces* sp. // Journal of Antibiotics, 2007. - Vol.60, No.10, pp.649–653.
2. Eun Ju Choo¹ and Henry F. Chambers. Treatment of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. // Bacteremia. Infect Chemother. 2016. - 48(4): 267–273.
3. Ludden Catherine, Cormican Martin, Vellinga Akke, R Johnson James, Austin Bernie, Morris Dearbháile. Colonisation with ESBL-producing and carbapenemase - producing *Enterobacteriaceae*, vancomycin-resistant enterococci, and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a long-term care facility over one year. // BMC Infect Dis. 2015. - 1; 15:168.

4. Жукова Э.В. Современное состояние проблемы антибиотикорезистентности и эпидемиологический надзор за устойчивостью микроорганизмов к антибактериальным препаратам. // «Инфекционные болезни», 2015. - № 1, С.44-47.
5. Priti V., Ramesha B.T., Singh S., Ravikanth G., Ganeshaiyah K.N., Suryanarayanan T.S. How promising are endophytic fungi as alternative sources of plant secondary metabolites? // Curr. Sci., 2009. – 97, 477-478.
6. Firáková Silvia Hercegová, Sturdikova Maria, Múčková Marta. Bioactive secondary metabolites produced by microorganisms associated with plants. // Biologia, 2007. - 62(3):251-257
7. Stone J.K., Bacon C.W., White J.F. An overview of endophytic microbes: endophytism defined. In: Bacon CW, White JF, editors. // Microbial endophytes. New York: Marcel Dekker Inc., 2000. - pp. 3-29.
8. Ludwig-Muller Jutta. Plants and endophytes: equal partners in secondary metabolite production? // Biotechnol Lett. 2015. - 37:1325–1334.
9. Anamika S., Joshi. M., Sahgal S., Sahu A., Prakash. Fungal Endophytes and Their Secondary Metabolites: Role in Sustainable Agriculture. // in book: Fungi and their Role in Sustainable Development: Current Perspectives, 2018. - pp. 121-146.
10. Mushafau Adewale Akinsanya, Joo Kheng Goh, Siew Ping Lim, Adeline Su Yien Ting. Diversity, antimicrobial and antioxidant activities of culturable bacterial endophyte communities in *Aloe vera*, FEMS Microbiology Letters, 362, 2015. - fmv184.

МИКРОБИОЛОГИЯ И АНТИМИКРОБНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ЧАЙНОГО ГРИБА (*Medusomyces gisevi*)

Зорина В.А., Кибешева Э.И., Аккузина С.Г.

MICROBIOLOGY AND ANTIMICROBIAL POTENTIAL OF TEA MUSHROOM

Zorina V.A., Kibeshva E.I., Akkuzina S.G.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кировский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Киров

Чайный гриб представляет собой симбиоз дрожжевых грибов семейства Saccharomycetaceae и уксуснокислых бактерий *Acetobacter* sp., *Gluconobacteroxydans*, *Bacteriumgluconicum*.

В процессе жизнедеятельности эти микроорганизмы выделяют органические кислоты и катехины, которые обладают антибактериальным действием. Известна его противомикробная эффективность в отношении *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia*

coli, *Bacillus cereus*, *Aeromonas hydrophila*, стафилококков, *Helicobacter pylori*, *C. albicans*, сальмонелл и шигелл. Также бактерии родов *Acetobacter* и *Gluconobacter* обладают антибиотическими свойствами, они способны оказать бактериостатическое или бактерицидное действие. В напитке, получаемом при выращивании чайного гриба, обнаружены следующие биологически активные вещества: органические и угольные кислоты (уксусная, глюконовая, глюкуроновая, лимонная, L-молочная, яблочная, винная, малоновая, щавелевая, янтарная, пировиноградная, усниновая), полисахариды, белки, сахара, ароматические масла, аминокислоты, биогенные амины, пурины, пигменты, липиды, некоторые гидролитические ферменты, этанол, антибиотически активные вещества, двуокись углерода, фенол, минералы (марганец, железо, никель, медь, цинк, свинец, кобальт, хром), витамины B1, B2, B6, B12 и C.

Целью исследования работы явилось изучение микрофлоры, формирующей тело гриба, и его антибактериальной активности.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования стал чайный гриб, который культивировали на поверхности раствора черного чая комнатной температуры и сахарного песка (соотношение 1: 0,025) в течение 24 часов при 24°C.

Применялись бактериологический и бактериоскопический методы исследования.

Посев, пробы тела гриба, проводили на среду Сабуро и мясо-пептонный агар (МПА). Культивирование осуществляли при температуре 22°C в течение 72 часов и при 37°C в течение 24 часов соответственно. Далее изготавливали мазки и окрашивали по Граму. Фиксировали результат в иммерсионную систему микроскопа при увеличении в 1000 раз.

Идентификацию изолированных микроорганизмов проводили после изучения их морфологических, тинкториальных и сахаролитической активности на средах Гисса.

Исследование антибактериальной активности гриба в отношении *Escherichia coli*, *Sarcina lutea*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Penicillium roqueforti* осуществляли методом «стекающей капли». В опыте использовали метаболиты чайного гриба, имеющие pH – 5.

Результаты исследования

После культивирования на МПА зафиксированы мелкие плоские полупрозрачные колонии серобелого цвета с ровными краями. Микроскопией мазка, изготовленного из колонии, установлено, что колонии сформировали грамтрицательные крупные палочки с закругленными концами. В плохо зафиксированном мазке бактерии были подвижными. Выделенная бактерия ферментировала до кислоты рамнозу, сахарозу, сорбит, эскулин, трегалозу, дульцит, глюкозу и не разлагала адонит, целлобиозу, аргинин, лактозу. Культура бактерии идентифицирована как *Acetobacter pasteurianus*.

На среде Сабуро через 72 обнаруживали R-колонии (бежевого цвета, матовые, шероховатые). При микроскопии обнаружены бочкообразные клетки, собранные в плотные длинные цепочки. В отношении сахаров гриб проявлял активность к глюкозе, сахарозе, мальтозе, ксилозе. Установлено, что он относится к виду *Cyberlindnera jadinii*.

Изучение антибактериальных свойств напитка чайного гриба в отношении кишечной палочки и сарцины осуществляли на МПА. В чашку Петри на среду наносили чистые культуры бактерий и формировали сплошной микробный газон. Далее на край посева помещали каплю напитка и, наклоня чашку, давали капле стечь по газону. Культивировали опытные чашки при температуре 37°C в течение 24 часов. Впоследствии, выявлена стерильная дорожка по ходу капли на среде засеянной кишечной палочкой. По данным эксперимента, метаболиты чайного гриба оказали бактерицидное действие только на кишечную палочку.

Для определения активности напитка гриба в отношении дрожжей вида *Saccharomyces cerevisiae* и плесневых грибов *Penicillium roqueforti* их пресевали на среду Сабуро и культивировали при комнатной температуре 22°C в течение 72 часов. По результатам эксперимента проба стекающей капли была отрицательной в обоих опытах. Надо отметить, что рост культуры *Saccharomyces cerevisiae* по ходу капли являлся более обильным, нежели около ее.

Выводы

1. В результате бактериологических и бактериоскопических исследований установлено, что микрофлору исследованного чайного гриба формируют микроорганизмы *Acetobacter pasteurianus* и *Cyberlindnera jadinii*.

2. Определена антибактериальная активность метаболитов чайного гриба в отношении кишечной палочки и отсутствие влияния на сарцину и плесневый гриб *Penicillium roqueforti*. Выявлен факт активации роста хлебопекарных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в присутствии биологически активных веществ, выделяемых чайным грибом.

РАЗРАБОТКА НЕИНВАЗИВНОГО МЕТОДА ВЫЯВЛЕНИЯ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ НЕПЕРЕНОСИМОСТИ СЫВОРОТКИ КОРОВЬЕГО МОЛОКА У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА

Колеватых Е.П.

DEVELOPMENT OF A NON-INVASIVE METHOD FOR DETECTING THE INDIVIDUAL INTOLERANCE OF COW'S MILK SERUM IN YOUNG CHILDREN

Kolevatykh E.P.

ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава
России, Киров

В настоящее время возрастает заболеваемость пищевой аллергией у детей раннего возраста. По данным Всемирной организации здравоохранения 85 – 90% детей с диагнозом «Атопический дерматит» имеют непереносимость белков коровьего молока и, соответственно, все продукты, содержащие коровье молоко [1]. Выявляют наличие аллергии только с взятием венозной крови, которое сопровождается болью, стрессом, опасностью занесения инфекции в вену [2]. Поэтому разработка метода обнаружения аллергии в слюне является актуальным, методика позволит определять антитела в ротовой жидкости в домашних условиях.

Цель работы: оценка выявления индивидуальной непереносимости белков сыворотки коровьего молока у детей раннего возраста с помощью определения специфических антител в ротовой жидкости.

Изучали микрофлору полости рта и сыворотки коровьего молока, иммуноглобулины Е в ротовой жидкости детей с диагнозом «Атопический дерматит». У детей в возрасте 8 - 10 месяцев стерильными коммерческими тампонами брали мазки из слизистых полости рта, ротовую жидкость собирали стерильной пипеткой в стерильные одноразовые емкости, доставляли в микробиологическую лабораторию.

Из исследуемого материала готовили фиксированные и нативные препараты, окрашивали методом Грама. Подвижность бактерий изучали при изготовлении препаратов «раздавленная» и «висячая» капли. Исследуемый материал разводили стерильным физиологическим раствором: 1:10, 1:100, 1: 1000, 1:10000 и т.д. Высевали на питательные среды: желточно-солевой агар (ЖСА), кровяной агар, энтерококкагар, Эндо-агар, среда Сабуро, мясо-пептонный агар (МПА). Инкубировали при температуре 37 градусов Цельсия с течение 24 – 48 – 72 часов, идентификацию осуществляли с применением биохимических тестов: STAPHTEST, STRTEST, AnAERoTEST, CANDIDATEST (Lachema, Чехия). В иммунологической лаборатории определяли иммуноглобулины Е (общие и специфические) с помощью тестовых наборов фирмы «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия) методом иммуноферментного анализа. Одновременно проводили полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в режиме реального времени. ДНК микроорганизмов выделяли по методике «ПробаГС» (ООО «НПО ДНК-технологии») согласно прилагаемой инструкции. Метод основан на сорбции ДНК на органическом носителе, отмывке примесей с последующей элюцией нуклеиновых кислот с сорбента. Для постановки ПЦР в реальном времени использовали реагенты ООО «НПО ДНК-технологии», в котором определяли общее микробное число, а также количество пародонтогенных микроорганизмов: *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis*, *Treponema denticola*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*. ПЦР и определение температуры плавления олигонуклеотидных проб проводили с помощью детектирующего амплификатора «ДТ-96» (ООО «НПО ДНК-технологии»). Для оценки результатов использовали программное обеспечение, прилагаемое к детектирующему амплификатору. После амплификации по показателю индикаторного цикла (Ct) рассчитывали количество ДНК исследуемых инфекционных

агентов. Для исключения ложноотрицательных результатов учитывали показатель амплификации геномной ДНК человека (контроль) [3,4]. Результаты исследований обрабатывали при помощи стандартных статистических пакетов («SPSS-11,5 for Windows»).

При изучении количества микробов в сыворотке коровьего молока установлено, что микробный состав в количественном и качественном составе соответствовал нормативным документам. В полости рта детей, имеющих аллергические реакции при употреблении коровьего молока, необходимо отметить *преобладание Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia, Candida albicans* по сравнению с микробиоценозом здоровых детей. При разработке тест-модели иммунохроматографического анализа использовали хроматографическую бумагу, на которую с помощью электрофореза наносили подвижные аллергены f236 сыворотки коровьего молока, конъюгированные ("сшитые") с коллоидным золотом - красителем, который можно легко идентифицировать даже в самых малых концентрациях [5,6]. Эти антигены нанесены вблизи участка погружения тест-полоски в физиологическую жидкость (ротовая жидкость). При избыточном содержании антител (иммуноглобулинов Е к аллергену f236) в ротовой жидкости ребенка (*in vitro*) происходило окрашивание хроматографической полоски. При сравнении с результатами иммуноферментного анализа установлено подтверждение диагноза в 60 % случаев.

Таким образом, при дальнейшем усовершенствовании предлагаемого нами метода можно применять его в домашних условиях, так как проводится вне организма человека, исследуемый материал от больного – ротовая жидкость.

ВЫВОДЫ

1. В сыворотке коровьего молока преобладали бактерии: *Lactobacillus ssp.*, *Streptococcus ssp.* (7×10^5 КОЕ/мл).
2. В полости рта у пациентов с аллергическими реакциями на белок сыворотки коровьего молока чаще выявляли *Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia, Candida albicans* по сравнению с микробиоценозом здоровых детей.
3. Иммунохроматографический метод подтверждает диагноз в 60% случаев.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баранов, А.А. Федеральные рекомендации по оказанию медицинской помощи детям с аллергией к белкам коровьего молока. – М.: МИА, 2015. – 91 с.
2. Иммуноферментный анализ: Пер. с англ./Под ред. Т. Нго, Г. Ленхоффа.- М.: Мир, 1988. – 446 с.
3. Wal, J.M. Bovine milk allergenicity//Ann. Allergy Asthma Immunol. - 2004. - 93(5). - P. 2-11.
4. Werfel, S., Cooke, S.K. Clinical reactivity to beef in children allergic to cow's milk//J. Allergy Clin. Immunol. - 1997. - 99(3). – P. 293-300.

5. Monaci, L., Tregoat, V. Milk allergens, their characteristics and their detection in food: A review//Eur. Food Research Tech. - 2006. - 223(2). – P. 149-179.

6. Restani, P., Gaiaschi, A. Cross-reactivity between milk proteins from different animal species//Clin. Exp. Allergy. - 1999. - 29(7). – P. 997-1004.

ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ ХИТОЗАНОВОГО ПОЛИМЕРА НА ЕГО БИОЦИДНУЮ АКТИВНОСТЬ

Куликов С.Н.^{1,2,3}, Хайруллин Р.З.^{1,2}

INFLUENCE OF THE STRUCTURE OF A CHITOSAN POLYMER ON ITS BIOCIDAL ACTIVITY

Kulikov S.N.^{1,2,3}, Khairullin R.Z.^{1,2}

¹Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии
Роспотребнадзора, г. Казань

²Казанский национальный исследовательский технологический университет, г.
Казань

³ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский)
федеральный университет», г. Казань

Взаимосвязь между химической структурой хитозанового полимера и его биологическим эффектом на клетки микроорганизмов остаётся до конца невыясненной. Установление подобной взаимосвязи осложняется тем, что хитозан, являющийся природным сополимером ацетилглюкозамина и глюкозамина, представляет собой гетерогенную группу веществ, различающихся по молекулярной массе, степени ацетилирования, расположению ацетилированных звеньев вдоль полимерной цепи, вязкости, значению рКа. Такая неоднородность вещества накладывает свой отпечаток на практическую реализацию свойств данного полимера: для получения идентичных по молекулярно-массовым характеристикам партий хитозанов, особенно низкомолекулярных, проходящих стадию деполимеризации, необходимо строго выдерживать все технологические параметры процесса гидролиза исходного высокомолекулярного субстрата. При этом даже у исходного высокомолекулярного хитозана от партии к партии могут существенно варьировать физико-химические характеристики: различные партии хитозана могут отличаться по молекулярной массе, степени деацетилирования, содержанию солей и примесных органических соединений. Всё это способно затруднить стандартизацию продукции на основе хитозанового полимера, а стандартизация с широкими параметрами свойств полимера ведёт к неполной реализации наиболее нужных и ценных свойств вещества.

Очевидно, что для точного установления взаимосвязи между физико-химическими свойствами и антибиотической активностью хитозана необходимо использовать узкодисперсные образцы полимера с охарактеризованным молекулярно-массовым распределением. Получение узкодисперсных хитозанов до последнего времени было сложной задачей, поэтому многие исследования биологической активности полимера проводились с использованием полидисперсных образцов. По этой причине затруднена интерпретация экспериментальных данных, поскольку биологический эффект хитозана может определяться минорной долей молекул с молекулярной массой, значительно отличающейся от средней для данного образца величины. Иногда получаются противоречивые результаты или биологическая активность значительно различается по своей величине у образцов хитозана на первый взгляд близких по одной из физико-химических характеристик.

Известно, что биоцидная активность хитозана во многом определяется положительным зарядом аминогрупп хитозана. Можно считать установленным, что антимикробная и противогрибная активности хитозана усиливаются при увеличении степени деацетилирования. Полимер с высокой степенью деацетилирования имеет большее количество свободных аминогрупп, а значит и сайтов связывания с поверхностными структурами клеток микроорганизмов. Это подтверждается многочисленными исследованиями, показавшими, что полимер, имеющий в своём составе более 90% сахарных остатков со свободными аминогруппами, наиболее эффективен против микроорганизмов.

Биоцидная активность хитозана усиливается при повышении кислотности, когда его молекулы приобретают свойства поликатиона. Положительный заряд позволяет хитозану связываться с анионными компонентами клеточных структур бактерий и грибов за счёт электростатического взаимодействия, а увеличение заряда полимера способствует более прочному связыванию хитозановой молекулы на поверхности клеток микроорганизмов.

Однако, противоречивыми остаются сведения о влиянии молекулярной массы хитозана на его антимикробное действие. Есть данные о том, что антимикробный эффект увеличивается с возрастанием степени полимеризации хитозана. Биоцидное действие высокомолекулярного хитозана объясняется тем, что увеличение количества аминогрупп способствует более прочному связыванию полимера с поверхностными структурами клетки, большей степени агглютинации клеток в растворе. Имеются противоположные данные, – что антибактериальная активность хитозана возрастает с уменьшением его степени полимеризации. Биоцидное действие низкомолекулярного хитозана связывают с тем, что такой хитозан, а также олигомеры, способны проникать через клеточную стенку бактерий, взаимодействовать с нуклеиновыми кислотами и другими цитоплазматическими веществами, нарушая их функционирование, что влечёт за собой гибель клетки. В некоторых работах указывается на эффективность хитозана с определённой молекулярной массой, изменение которой в сторону уменьшения или

увеличения ведёт к снижению антибактериальной активности хитозанового полимера.

Для установления антибактериальных свойств низкомолекулярных хитозанов в зависимости от их степени полимеризации нами были получены узкодисперсные образцы с различными молекулярными массами (от 728 до 19991 Да) и высокой степенью дезацетилирования (95-99%). Полученные образцы низкомолекулярных хитозанов анализировали хроматографическим методом как описано в работе [1].

В ходе проведения работы установлено, что различные виды бактерий обладают различной чувствительностью к низкомолекулярному хитозану и его производным. Наиболее чувствительным оказался *Staphylococcus epidermidis*, для которого минимальная ингибирующая (МИК) и бактерицидная (МБК) концентрации некоторых хитозанов были менее 1 мкг/мл. Отмечена повышенная чувствительность к хитозану и у *Klebsiella pneumoniae*. Для остальных бактерий МИК составляли более 100 мкг/мл.

Не было выявлено различий в чувствительности к хитозану бактерий в зависимости от строения клеточной стенки. Несмотря на то, что *S. epidermidis* обладал очень высокой чувствительностью к хитозану, тем не менее другой грам-положительный кокк – *Staphylococcus aureus* был одним из самых устойчивых к действию хитозанового полимера, а среди грам-отрицательных бактерий *K. pneumoniae* была более чувствительна по сравнению с другими видами.

Было показано, что антибактериальная активность хитозана зависит от его молекулярной массы. Так, с ростом молекулярной массы антибактериальные свойства хитозанов усиливались вне зависимости от вида микроорганизма. Наименее сильно влияние молекулярной массы на ингибирующее действие было отмечено в отношении *Proteus vulgaris*.

Наименьшим антибактериальным действием обладали два самых низкомолекулярных образца, по сути представляющие собой олигомеры от тетра до нонамеров (образцы с Mw 728 и 1524 Да). Только для двух видов организмов из восьми – *K. pneumoniae* и *Citrobacter freundii*, которые использовались в эксперименте, было отмечено отличие в МИК для этих двух низкомолекулярных образцов. Интересно отметить, что только для этих двух образцов характерна более низкая биоцидная активность по сравнению с ингибирующей активностью, которая отмечена для половины используемых в эксперименте видов бактерий, тогда как для более высокомолекулярных хитозанов ингибирующая и биоцидная активность совпадали.

Наиболее интенсивное возрастание антибактериальных свойств отмечено для хитозанов при переходе молекулярной массы от 2 до 6-9 кДа. Для пяти из восьми видов бактерий максимальное антибактериальное действие было отмечено уже для образца с молекулярной массой 8300, которое не менялось с возрастанием молекулярной массы. Вероятно для хитозана имеется критическое значение молекулярной массы, ниже которой антибактериальные свойства уменьшаются, а выше которой практически находятся на одном уровне. Таким образом, антибактериальная активность хитозана зависит от степени полимеризации хитозана – биоцидная активность повышалась с

ростом молекулярной массы полимера. Установлено, что антибактериальная активность олигомерных форм хитозана до 2 кДа незначительна. Повышение противомикробных свойств отмечено для образцов с молекулярной массой от 2 до примерно 8 кДа, при дальнейшем увеличении молекулярной массы антимикробное действие хитозана не усиливается.

Возможно, биоцидная активность хитозана меняется в зависимости от рН среды в разной степени для низкомолекулярных и высокомолекулярных образцов хитозана. Известно, что значение pK_a , при котором половина аминогрупп хитозана заряжена положительно, лежит в области 6,2-6,5. Для глюкозамина – олигомера хитозана, pK_a составляет 7,8. Вероятно, что олигомеры хитозана и некоторые олигохитозаны будут иметь промежуточные значения pK_a , и, при нейтральных и слабощелочных значениях рН среды такие молекулы будут обладать более эффективной антибактериальной активностью за счёт сохранения большего количества протонированных аминогрупп, по сравнению с высокомолекулярными образцами хитозана, низкие значения pK_a которых не позволяют им в этих условиях сохранять достаточный положительный заряд. При низких значениях рН, когда все молекулы хитозана заряжены значительно, на первый план в их антибактериальной эффективности может выйти степень полимеризации, большая величина которой позволяет обеспечить более прочную связь с клеточными компонентами за счёт многоточечного взаимодействия. Таким образом, биоцидная активность хитозана может определяться несколькими факторами одновременно – молекулярной массой полимера, его уровнем pK_a и значением рН среды [2], что может оказаться важным в практическом применении низкомолекулярного хитозана при использовании его в качестве консерванта.

Таким образом, получение узкодисперсных низкомолекулярных образцов хитозана позволяет более точно установить взаимосвязь химической структуры полимера с его биологической активностью и выявить оптимальные молекулярно-массовые параметры сочетающие наличие высокой биоцидной эффективности и хорошей растворимости. Всё это позволяет ожидать появления образцов консервантов на основе низкомолекулярного хитозана с улучшенными характеристиками.

Литература

1. Лопатин С.А., Дербенева М.С., Куликов С.Н., Варламов В.П., Шпигун О.А. Фракционирование хитозана методом ультрафильтрации // Журнал Аналитической Химии. – 2009. - Т. 64. - № 6. - С. 666-670.
2. Bierbaum G., Sahl H.G. Autolytic system of *Staphylococcus simulans* 22: influence of cationic peptides on activity of N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase // J. Bacteriol. – 1987. – V. 169. – P. 5452–5458.

МЕХАНИЗМ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ ХИТОЗАНА

Куликов С.Н.^{1,2,3}, Бруслик Н.Л.¹

MECHANISM OF ANTIBACTERIAL ACTION OF CHITOSAN

Kulikov S.N.^{1,2,3}, Bruslik N.L.¹

¹Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии
Роспотребнадзора, г. Казань

²Казанский национальный исследовательский технологический университет, г.
Казань

³ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань

На сегодняшний день механизм биоцидного действия хитозана в отношении микроорганизмов рассматривается как процесс, затрагивающий в первую очередь наружные структуры клеток – клеточную стенку и цитоплазматическую мембрану (ЦПМ). Воздействие хитозана на внутриклеточные структуры можно считать следующим этапом, обусловленный предшествующим нарушением нативности внешних клеточных покровов. Однако, широкий диапазон молекулярных масс полимера позволяет допустить предположение, что хитозаны с различной степенью полимеризации могут обладать различной проникающей способностью через клеточные стенки микроорганизмов и олигомерные формы вещества способны в равной степени быстро и независимо оказывать влияние как на внешние покровы клеток, так и на внутриклеточные компоненты. В качестве примера можно привести известный антибиотик стрептомицин – поликатионное вещество, не имеющий мишени в клеточной стенке бактерий и для действия которого необходимо его проникновение в цитоплазму. Таким образом, хитозан, в отличие от классических веществ с антибиотическими свойствами, не имеет единственной мишени для своего действия, а его антибактериальный и противогрибной эффекты являются совокупностью нескольких возможных механизмов, складывающихся в сложный процесс, который приводит в конечном итоге к гибели клеток микроорганизмов.

Тем не менее, биоцидное действие хитозана в отношении различных бактерий, а также микроскопических грибов может иметь свои отличительные особенности, которые будут рассмотрены далее.

Действие хитозана на грамотрицательные бактерии. Внешняя мембрана грамотрицательных бактерий является мощным барьером для многих антибиотических веществ. В состав мембраны входит липополисахарид (ЛПС), который придаёт поверхности микробной клетки отрицательный заряд и гидрофильные свойства, благодаря чему затрудняется проникновение внутрь клетки гидрофобных молекул с антибактериальным действием. Поликатионная природа хитозана позволяет ему

связываться с отрицательно заряженным ЛПС. Было показано, что такая связь приводит к изменениям во внешней мембране у *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Salmonella typhimurium*, что подтверждалось уменьшением устойчивости клеток к действию некоторых детергентов.

ЛПС выполняет важную структурную роль. Стабильность же структуры мембраны обеспечивается двухвалентными катионами металлов, которые находятся в комплексе с ЛПС, поэтому удаление ионов металлов за счёт связывания их какими-либо хелатирующими агентами приводит к уменьшению стабильности внешней мембраны. Хитозан способен хелатировать катионы металлов благодаря многочисленным аминогруппам, что может приводить к дестабилизации внешних структур грам-отрицательных бактерий. Хотя по сравнению с более сильным хелатирующим агентом – ЭДТА, хитозан не вызывает обильного высвобождения из мембраны ЛПС и глицерофосфолипидов, тем не менее изменения в структуре резко снижают её барьерную функцию, тем самым делая клетки бактерий более подверженными действию других антибактериальных веществ, которые не способны проникать через нативную мембрану.

Микроскопические исследования показали, что при действии хитозана поверхность грам-отрицательных бактерий становится неровной, на разрезе внешняя мембрана выглядит утолщённой за счёт связавшегося с ней поликатиона, появляются везикулярные структуры, иногда мембрана выглядит прерывистой, отмечаются разрывы [4]. Иногда в действии хитозана на грам-отрицательные бактерии выделяют две стадии, когда сначала клеточная стенка отходит от цитоплазматической мембраны, а потом происходит разрыв мембраны и интенсивный выход цитоплазматического содержимого наружу.

Хитозан способен проникать через клеточную стенку и взаимодействовать с фосфорными остатками липидов ЦПМ, что также ведёт к нарушению её проницаемости. В результате взаимодействия хитозана с ЦПМ отмечается выход из клетки в среду компонентов цитоплазмы, поглощающих ультрафиолет – белков и коферментов [5]. Иногда при действии хитозана выход белков не наблюдается, что связывают с образованием на поверхности клетки хитозановой плёнки, которая блокирует выход цитоплазматических компонентов наружу, и в то же время препятствует поступлению внутрь необходимых для нормальной жизнедеятельности микроорганизма веществ.

Таким образом, при действии хитозана нарушается нормальное функционирование и строение внешних структур клеточной стенки, ЦПМ, цитозоля, нарушается обмен веществ между клеткой и окружающей средой, что в конечном итоге ведёт грам-отрицательные бактерии к лизису.

Действие хитозана на грамположительные бактерии. Особенностью грамположительных прокариот является наличие в их клеточной стенке тейхоевых кислот. Многочисленные остатки фосфорной кислоты придают тейхоевым кислотам полианионные свойства, благодаря чему она становится важнейшим резервуаром двухвалентных катионов и регулятором ионного обмена. Поэтому хелатирование

двухвалентных катионов хитозаном или их вытеснение из комплекса с тейхоевой кислотой может нарушить ионный баланс клетки.

Кроме ионов металлов в комплексе с тейхоевыми кислотами находятся автолизины, которые играют важную роль в деградации пептидогликана клеточной стенки, необходимой в процессе роста и деления бактерий. Поэтому тейхоевые кислоты, связывая, и, таким образом, ингибируя действие автолизинов, выступают регуляторами активности этих белков. Следовательно, избыточное вытеснение автолизинов из их комплекса с тейхоевыми кислотами будет провоцировать неконтролируемый лизис клеточной стенки. Можно представить, что хитозан способен конкурентно вытеснять автолизины из их комплекса с тейхоевыми кислотами. Действительно, автолитические ферменты *Staphylococcus simulans* - N-ацетилмурамил-L-аланин-амидаза и эндо-b-N-ацетилглюкозаминидаза активизируются в присутствии различных положительно-заряженных веществ, в том числе антибиотиков [6].

Микроскопические исследования показали, что при действии хитозана изменялась морфология клеточной стенки *S. aureus*, уменьшалась её ригидность, наблюдалось разрушение клеточной стенки и даже образование протопластов [7]. В некоторых случаях изменения в строении клеточной стенки при действии хитозана не отмечались, однако происходили серьёзные изменения внутри клетки, например, ЦПМ местами отходила от клеточной стенки, образуя вакуолеподобные структуры, а нуклеоид, образующий на электронных микрофотографиях область с низкой плотностью, становился более дисперсным [8]. Эти данные свидетельствуют о том, что действие хитозана не ограничивается клеточной стенкой, и полимер находит мишени внутри бактериальной клетки. Как и в случае с грамотрицательными бактериями, хитозан нарушает проницаемость ЦПМ, что ведёт к уменьшению мембранного потенциала, высвобождению клеткой в среду ионов калия, низкомолекулярных нуклеотидов и коэнзимов и даже цитоплазматических ферментов.

В недавних исследованиях было показано, что при действии хитозана на *S. aureus* существенно изменялся уровень экспрессии 166 генов, 84 из которых индуцировались и 82 супрессировались, что сравнительно немного по сравнению с уровнем изменений при действии катионных антимикробных пептидов [8].

Ингибирование роста золотистого стафилококка сопровождалось уменьшением экспрессии генов, вовлечённых в биосинтез РНК и белков, а также метаболизм углеводов, аминокислот, нуклеотидов и нуклеиновых кислот, липидов и коэнзимов. Усиливалась экспрессия генов, которые кодируют ферменты, участвующие в энергетическом метаболизме в условиях недостатка кислорода или при разрыве электронной транспортной цепи. Таким образом, сделано предположение, что хитозан, взаимодействуя с клеточной стенкой и ЦПМ *S. aureus*, может затруднять поступление кислорода в клетку, либо нарушает аэробное дыхание посредством разрыва мембранной электронной транспортной цепи и вынуждает клетку перейти на анаэробный тип дыхания. Следует отметить, что нарушение электронной транспортной цепи в результате

взаимодействия хитозана с ЦПМ возможно и у грамотрицательных бактерий.

В целом, транскрипционный профиль, индуцируемый хитозаном у *S.aureus*, сильно отличается от транскрипционного профиля при действии антибиотиков, что затрудняет их сопоставление. Но очевидно, что действие биополимера не ограничивается внешними клеточными структурами, а затрагивает биохимические процессы в клетке в целом, вызывая изменение паттерна генов. Имеются данные, что в сублетальных концентрациях хитозан на уровне регуляции генов ингибирует продуцирование стафилококками TSST-1, энтеротоксинов В и С, дельта-гемолизина, а стрептококками пирогенного экзотоксина А [9].

Таким образом, хитозан, в отличие от классических веществ с антибиотическими свойствами, не имеет единственной мишени для своего действия, а его антибактериальный и противогрибной эффекты являются совокупностью нескольких возможных механизмов, складывающихся в сложный процесс, который приводит в конечном итоге к гибели клеток микроорганизмов.

Литература

1. Сафронова Т.М. Применение хитозана в производстве пищевых продуктов // Хитин и хитозан: получение, свойства и применение / Под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихоревой, В.П. Варламова. - М.: Изд-во Наука, 2002. - С. 315-326.
2. Москаленко Т.М., Шепель Т.А., Сахарова Т.Г. // Тез. IV конф. «Производство и применение хитина и хитозана». –М.: ВНИРО, 1995. – С. 17-18.
3. Быкова В.М., Немцев С.В., Кривошеина Л.И., Ежова Е.А., Глазунов О.И. «Милахит» в консервировании зернистой икры лососёвых рыб // Рыбпром. – 2009. - № 1. – С. 33-34.
4. Helander I.M., Nurmiäho-Lassila E.L., Ahvenainen R., Rhoades J., Roller S. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of gram-negative bacteria // Int. J. Food Microbiol. – 2001. – V. 71. – P. 235–244.
5. Lim S.H., Hudson S.M. Review of chitosan and its derivatives as antimicrobial agents and their uses as textile chemicals // J. Macromol. Sci. – 2003. - V. C43. - № 2. - P. 223-269.
6. Bierbaum G., Sahl H.G. Autolytic system of *Staphylococcus simulans* 22: influence of cationic peptides on activity of N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase // J. Bacteriol. – 1987. – V. 169. – P. 5452–5458.
7. Didenko L.V., Gerasimenko D.V., Konstantinova N.D., Silkina T.A., Avdienko I.D., Bannikova G.E., Varlamov V.P. Ultrastructural study of chitosan effects on *Klebsiella* and staphylococci // Bull. Exp. Biol. Med. – 2005. – V. 140. P. 356–360.
8. Raafat D., Barga K., Haas A., Sahl H.G. Insight into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound // Appl. Env. Microbiol. – 2008. – V. 74. - № 12. - P. 3764–3773.

9. Schlievert P.M. Chitosan malate inhibits growth and exotoxin production of toxic shock syndrome-inducing *Staphylococcus aureus* strains and group A streptococci // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2007. – V. 51. - № 9. – P. 3056–3062.

МЕХАНИЗМ АНТИМИКОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ХИТОЗАНА

Куликов С.Н.^{1,2,3}, Тюрин Ю.А.^{1,4}

MECHANISM OF ANTIMICOTIC ACTION OF CHITOSAN

Kulikov S.N.^{1,2,3}, Tyurin Yu.A.^{1,4}

¹Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии
Роспотребнадзора, г. Казань

²ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань

³Казанский национальный исследовательский технологический университет, г. Казань

⁴ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», г. Казань

Механизм антимикотического действия хитозана остаётся на сегодняшний день малоизученным. По аналогии с бактериями действие хитозана связывают с нарушением структуры клеточной стенки, ведущее к изменению морфологии мицелия, размера и формы спор, нарушением целостности грибной ЦПМ, приводящее к выходу из клеток цитоплазматического содержимого [1, 2]. Однако, в отдельных работах отмечается, что антигрибное действие поликатиона не сопровождается обильным выходом внутриклеточных компонентов благодаря клеточной стенке, но при этом отмечается сильное влияние полимера на ионное окружение грибных клеток [3]. Поскольку дрожжеподобные и мицелиальные грибы относятся к эукариотическим микроорганизмам, вероятно, противогрибная активность хитозана будет иметь и свои особенности механизма действия по сравнению с таковым у прокариот, а на основе некоторых экспериментальных данных также позволяет предположить наличие апоптозо-подобного механизма в антимикотическом действии хитозана [3].

В присутствии хитозана существенно изменяется морфология клеток мицелиального гриба *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* – усиливается ветвление мицелия, а сам он приобретает неправильную искривлённую форму. В присутствии хитозана у альтернарии при росте в жидкой питательной среде наблюдалось сильное уменьшение продукции микотоксинов – альтернариола и метилового эфира альтернариола. Схожий эффект был зафиксирован в эксперименте где присутствие хитозана уменьшало выработку грибами *Aspergillus flavus* и *Aspergillus parasiticus* афлотоксинов [4]. Кроме того, было отмечено ингибирование прорастания спор и их образование у обоих видов грибов. Дрожжеподобный гриб *S. albicans* при действии на него высокомолекулярного хитозана перестаёт образовывать ростовые трубки, рост которых приводит к образованию псевдомицелия и формированию сложных трёхмерных живых структур [5].

Характерной особенностью грибов является наличие сфинголипидов - самого многочисленного типа анионных липидов в составе их ЦПМ. Отрицательно-заряженные

компоненты грибной ЦПМ являются мишенью для катионных противогрибных пептидов животных, насекомых и растений, и именно через сфинголипиды опосредуется действие растительных дефензинов в отношении *S. cerevisiae*, *Neurospora crassa*, *C. albicans*, *Picharella pastoris*. Возможно через сфинголипиды проявляет антигрибное действие и хитозан. На проявление антимикотического действия хитозана в отношении мицелиальных грибов влияет соотношение в их составе мононенасыщенных, полиненасыщенных и насыщенных липидов [6]. Для антимикотического действия хитозана необходимо высокое содержание в ЦПМ липидов с остатками ненасыщенных жирных кислот, что, вероятно, облегчает проникновение биополимера во внутренние структуры мембран, а также внутрь грибных клеток. Так, чувствительные к хитозану штаммы *N. crassa* и *Fusarium oxysporum* имели в составе липидов своих клеточных мембран 22 и 20% ненасыщенных и 58 и 60% полиненасыщенных жирных кислот, соответственно, тогда как более резистентные штаммы грибов *Pochonia chlamydsporia*, *Beauveria bassiana* имели 28 и 33% ненасыщенных и 48 и 42% полиненасыщенных жирных кислот, соответственно. Устойчивый к хитозану мутантный штамм *N. crassa* характеризовался более высоким содержанием мононенасыщенных жирных кислот в липидах ЦПМ, и меньшим содержанием ненасыщенных и полиненасыщенных кислот. Эти данные свидетельствуют, что уменьшение содержания остатков полиненасыщенных кислот в составе липидов ЦПМ является наиболее важным фактором приобретения микроорганизмом повышенной устойчивости к хитозану, чем уменьшение количества остатков насыщенных жирных кислот, которое связано с приобретением чувствительности *N. crassa* к хитозановому полимеру [6]. Таким образом, ЦПМ у грибов может служить мощным барьером против хитозана, а её состав и свойства текучести, служат важными факторами, которые определяют эффективность антимикотического действия биополимера. Как и в случае с бактериями хитозан способен проникать внутрь грибных клеток, что наглядно продемонстрировано на примере *N. crassa* [7]. То, что чувствительность грибной клетки к хитозану зависит от защитных функций ЦПМ подтверждается тем, что повышенный уровень экспрессии гена *ARL1*, относящегося к суперсемейству *Ras*-генов, участвующего в регуляции мембранного транспорта, связан с развитием повышенной резистентности клетки к негативному действию поликатиона [8]. При этом развитие устойчивости *S. cerevisiae* к хитозану за счёт усиления экспрессии гена *ARL1* не ведёт к увеличению устойчивости гриба к таким антимикотикам как флуконазол, амфотерицин В, тербинафин. Это позволяет рассматривать данный элемент защитного механизма грибной клетки как специфический в отношении хитозанового полимера, что в свою очередь позволяет сделать предположение о наличии у хитозана специфических, присущих только ему механизмах антимикотического действия.

Вышеприведённые данные подтверждаются исследованиями с использованием мутантных штаммов *S. cerevisiae*, которые были дефектны по генам, вовлечённых в синтез сфинголипидов и эргостерола. [9]. Однако, ещё более значимыми для устойчивости дрожжей к хитозановому полимеру оказались гены, вовлечённые в

биосинтез белков. Было выявлено как минимум 33 таких гена, повреждение которых сопровождается резким увеличением чувствительности клеток дрожжей к поликатиону, при этом 18 из них кодировали рибосомальные белки [9].

Было показано, что при действии хитозана у *S. cerevisiae* существенно изменялся уровень экспрессии 671 генов, 432 из которых индуцировались и 239 супрессировались [2].

Сублетальная концентрация хитозана вызывала уменьшение экспрессии генов РНК-полимераз и рРНК и других генов, вовлечённых в биосинтез рибосом [2]. Особенностью этих генов являлось наличие в их промоторных участках коротких последовательностей CGATGAG и AAAATTT, которые контролируются факторами транскрипции PAC и rRPE, соответственно. Таким образом, супрессируются те же группы генов, что и при таких стрессовых воздействиях как тепловой шок, воздействие сорбитола, перекиси водорода [10].

Первыми индуцируются гены, относящиеся к эндоплазматическому ретикулуму, которые вовлечены в биосинтез компонентов плазматической мембраны, а также белки, имеющие аминокислотные последовательности характерные для трансмембранных участков. Затем активизируются группы генов, которые участвуют в биогенезе клеточной стенки и поддержании её нормальной структуры, а также имеющие отношение к ЦПМ. Таким образом, действие хитозана приводит к изменению экспрессии тех генов, которые имеют отношение к структурам-мишеням для хитозанового полимера, каковыми являются клеточная стенка и ЦПМ, а также ЭПР, в котором образуются составные компоненты для поверхностных структур [2].

Было показано, что индуцируются гены промоутерные области которых несут последовательности AGGGG и CCCCT, специфичные для факторов транскрипции Msn2p и Msn4p, соответственно [2]. Эти факторы транскрипции участвуют в активации генов при различных стрессовых воздействиях на дрожжевую клетку [10]. Также хитозан индуцирует гены несущие в промоутерных областях короткие последовательности A/CTTAC/TA/GTAAG/T, GAGGCT и TAA/TA/TA/TA/TTAGA/C для факторов регуляции Cin5p, Crz1p и Rlm1p, соответственно. Фактор транскрипции Cin5p регулирует экспрессию некоторых генов, кодирующих цитоплазматические белки, определяющие устойчивость к повышенной температуре и этанолу. При недостатке Cin5p клетки дрожжей приобретают повышенную чувствительность к хитозану. Фактор транскрипции Crz1p регулирует экспрессию генов, кодирующих транспортные белки для полиаминов, например, спермина – катионной молекулы, как и хитозан. Ингибирование действия Crz1p также делает клетки более чувствительными к хитозану. Фактор транскрипции Rlm1p регулирует экспрессию генов, продукты которых участвуют в поддержании целостности грибной клеточной стенки, таким образом, препятствуя негативному воздействию хитозана. Таковыми являются 1,3-β-глюкансинтетаза и белки, участвующие в гликозилировании маннопротеинов клеточной стенки [2].

При действии хитозана отмечено повышение экспрессии генов хитинсинтетаз [2] –

ферментов, которые могут способствовать повышению содержания хитина и создавать дополнительные сшивки с молекулами глюканов в клеточных стенках, что ведёт к усилению защитных свойств наружных структур. Выжившие после воздействия хитозана дрожжевые клетки приобретают повышенную устойчивость к β -1,3-глюканазе, что подтверждает включение микроорганизмом реакций, направленных на усиление защитных свойств клеточной стенки. Подобный эффект у дрожжей вызывают некоторые красители — конго красный и калькофлюор [2]. При действии хитозана на клетки *S. albicans* было отмечено усиление выработки хитиназ — ферментов, которые могут рассматриваться как элементы защиты грибов от поликатиона путём его энзиматического расщепления [3]. Клетки дрожжей, у которых в результате мутаций или действия соответствующих специфических ингибиторов, снижена активность генов, продукты которых принимают участие в синтезе и процессинге РНК, организации актинового цитоскелета, координации эндоцитоза, гликозилировании протеинов, синтезе эргостерола и образовании клеточной стенки, становятся гиперчувствительными к действию хитозана. Таким образом, эти данные показывают, что хитозан оказывает многостороннее влияние на грибную клетку, действуя на различные её компартменты, и для него не существует единственной мишени, которая опосредует его антигрибную активность [11]. Более того, было показано, что набор генов *S. cerevisiae*, которые вовлечены в активацию при действии хитозана, существенно отличается от составов генов, транскрипция которых усиливается при действии других известных антимикотиков [8]. Это позволяет сделать вывод, что хитозан может быть использован в качестве альтернативы классическим фунгицидам для борьбы с резистентными штаммами патогенных грибов.

Литература

1. Bhaskara Reddy M.V., Arul J., Ait-Barka E., Angers P, Richard C., Castaigne F. 1998. Effect of chitosan on growth and toxin production by *Alternaria alternata* f. sp. *Lycopersici*. *Biocontrol Science Technol.* 8, 33-43.
2. Zakrzewska A., Boorsma A., Brul S., Hellingwert K.J., Klis F.M. 2005. Transcriptional response of *Saccharomyces cerevisiae* to the plasma membrane-perturbing compound chitosan. *Eukaryotic Cell.* 4(4), 703-715.
3. Peña A., Sánchez N.S., Calahorra M. 2013. Effects of chitosan on *Candida albicans*: conditions for its antifungal activity. *Biomed Res Int.* doi: 10.1155/2013/527549.
4. Cuero R.G., Osuji G., Washington A. 1991. N-carboxymethylchitosan inhibition of aflatoxin production: role of zinc. *Biotechnology Letters.* 13(6), 441-444.
5. Calamari S.E., Bojanich M.A., Barenbaum S.R., Berdicevski N., Azcurra A.I. 2011. Antifungal and post-antifungal effects of chlorhexidine, fluconazole, chitosan and its combinations on *Candida albicans*. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.* 16(1), 23-28.

6. Palma-Guerrero J., Lopez-Jimenez J.A., Pérez-Berná A.J., Huang I.C., Jansson H.B., Salinas J., Villalaín J., Read N.D., Lopez-Llorca L.V. 2010. Membrane fluidity determines sensitivity of filamentous fungi to chitosan. *Mol. Microbiol.* 75(4), 1021-1032.
7. Palma-Guerrero J., Huang I.C., Jansson H.B., Salinas J., Lopez-Llorca L.V., Read N.D. 2009. Chitosan permeabilizes the plasma membrane and kills cells of *Neurospora crassa* in an energy dependent manner. *Fungal Genet. Biol.* 46(8), 585-594.
8. Jaime M.D., Lopez-Llorca L.V., Conesa A., Lee A.Y., Proctor M., Heisler L.E., Gebbia M., Giaever G., Westwood J.T., Nislow C. 2012. Identification of yeast genes that confer resistance to chitosan oligosaccharide (COS) using chemogenomics. *BMC Genomics.* 13, 267.
9. Galván Márquez I., Akuaku J., Cruz I., Cheetham J., Golshani A., Smith M.L. 2013. Disruption of protein synthesis as antifungal mode of action by chitosan. *Int. J. Food Microbiol.* 164(1), 108-112.
10. Gasch A.P., Spellman P.T., Kao C.M., Carmel-Harel O., Eisen M.B., Storz G., Botstein D., Brown P.O. 2000. Genomic expression programs in the response of yeast cells to environmental changes. *Mol. Biol. Cell.* 11, 4241-4257.
11. Zakrzewska A., Boorsma A., Delneri D., Brul S., Oliver S.G., Klis F.M. 2007. Cellular processes and pathways that protect *Saccharomyces cerevisiae* cells against the plasma membrane-perturbing compound chitosan. *Eukaryotic Cell.* 6(4), 600-608.

**БИОПЛЕНКИ СМЕШАННЫХ МИКРОБИОЦЕНОЗОВ БИОТОПА
РОТОГЛОТКИ ЧЕЛОВЕКА: КОНЦЕПЦИЯ СИНЕРГИЗМА СПАРЕННЫХ
СИМБИОТИЧЕСКИХ КОМПАРТМЕНТОВ**

Лисовская С.А.^{1,2}, Валиева Р.И.^{1,2}

***BIOFILMS OF MIXED MICROBIOCENOSES OF THE HUMAN
OROTOPHARAL BIOTOPE: THE CONCEPT OF SYNERGISM OF
PAIRED SYMBIOTIC COMPARTMENTS.***

Lisovskaya S.A.^{1,2}, Valieva R.I.^{1,2}

¹ФБУН Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора,
Казань

²ФГБОУ ВО «Казанский ГМУ» Министерства здравоохранения РФ, Казань

Слизистая ротовой полости является основными воротами для различных видов микроорганизмов, где все благоприятствует их активному размножению и колонизации. Надо отметить, что в первую очередь это морфофизиологические особенности ротовой полости (неровный рельеф слизистой оболочки, наличие органических остатков, щелочная реакция секрета слюны, постоянная температура, поверхность зубов).

Микроорганизмы у человека в ротовой полости, как правило, являются составляющими микробных ассоциаций. Известно, что в микробной ассоциации между разными видами складываются сложные и неоднозначные взаимоотношения, в которых тесно переплетаются взаимные влияния участников ассоциаций друг на друга и на макроорганизм. Так, грибы и бактерии заселяя слизистые, могут выступать в качестве возбудителей оппортунистических инфекций или провоцировать воспалительные реакции.

Подавляющее большинство инфекционных заболеваний человека, так или иначе, связано с образованием биопленок – микробных консорциумов, погруженных в выделяемый ими высокомолекулярный матрикс, состоящий из белков, нуклеотидов и полисахаридов и обуславливающий чрезвычайную устойчивость микроорганизмов к неблагоприятным факторам, включая антибиотики и иммунную систему организма, а также от механического воздействия потока слюны. Стоит подчеркнуть, что в смешанных биопленках между микроорганизмами наблюдаются синергетические, мутуалистические и антагонистические взаимодействия, поэтому лечение смешанных инфекций происходит значительно сложнее и дольше. Одним из наиболее тревожных последствий синергизма между микроорганизмами является повышенная устойчивость к антимикробным агентам за счет выживания одних микроорганизмов в составе биопленки устойчивых штаммов и перехода в некультивируемое состояние (персистенция).

В ходе проведенного ретроспективного анализа лабораторных журналов Казанского НИИ микробиологии и иммунологии, выявлено, что наиболее часто в микробиологических посевах со слизистой ротовой полости у пациентов, обратившихся в лабораторию, выявляются бактерии: *Streptococcus spp.*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *S. epidermidis* и грибы: *Candida albicans*. В литературе на сегодняшний день практически отсутствуют данные о характере взаимодействия *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *C. albicans* и других видов в составе смешанных биопленок. Остаются также не охарактеризованными молекулярные механизмы и инструменты микроорганизмов, обуславливающие сложный характер взаимодействий в поливидовом микробном сообществе. Отсутствуют данные об эффективности широко используемых антимикробных препаратов для эрадикации таких биопленок.

Цель работы. Моделирование смешанных поливидовых микобактериальных биопленок *C. albicans* и *S. aureus*, *in vitro* с целью анализа характера взаимодействия микроорганизмов в них и формирование антибиотикорезистентности.

Материалы и методы. Объектами исследования служили клинические штаммы: *C. albicans* и *S. aureus*, выделенные с поверхности слизистой ротовой полости от пациентов находящихся на амбулаторном лечении, с хроническим рецидивирующим течением инфекционно-воспалительного заболевания слизистой. Идентификацию микроорганизмов осуществляли по морфологическим, биологическим и биохимическим свойствам в соответствии с нормативными документами.

Формирование биопленок грибов, проводили, по методу Ramage et al. (2001). Тестируемые микроорганизмы *C. albicans* и *S. aureus* промывали два раза стерильным фосфатным буфером и ресуспендировали в жидкой модифицированной среде Сабуро с конечной плотностью $1,0 \times 10^6$ клеток/мл. Суспензию клеток в количестве 100 мкл (для моно-биопленки) и по 50 мкл x2 каждого из двух видов (для полимикробных биопленок) вносили в 96-луночные плоскодонные полистироловые микропанели и инкубировали в течение 1-3 суток при 37⁰С. После образования биопленки планшеты промывали три раза стерильным фосфатным буфером. Степень или количество формирования биопленок оценивали колориметрическим способом. В лунки со сформированными биопленками добавляли 125 мкл водного раствора 1% кристаллического фиолетового и инкубировали 20 мин при 37⁰С. После удаления избытка красителя и промывки лунок добавляли 95% этанол в количестве 125 мкл, оптическую плотность (D) регистрировали на ридере с вертикальным лучом света с использованием светофильтра 620 нм.

Определение чувствительности планктонных форм к противогрибковым препаратам *in vitro* выполняли по протоколу CLSI M27-A3. Определение МИК осуществляли визуально. Оценку чувствительности штаммов к антимикотикам проводили согласно критериям интерпретации метода M27-A3 S 4. Определение чувствительности микроорганизмов в составе биопленок проводили методом, предложенным Ramage et al. (2001) и Chandra et al. (2001).

Результаты и обсуждения. Нами проведен анализ резистентности штаммов как в планктонной, так и в моно- и микст биопленочных структурах. Оценивали чувствительность штаммов к широко применяемым в клинической практике противомикробным препаратам: ципрофлоксацин, мирамистин, бензалкония хлорид, тербинафин, флуконазол. Клинические штаммы в биоплёнках проявляли выраженную резистентность ко всем видам препаратов (МИК, подавляющая рост биоплёнок, иногда в 100 раз превышала МИК, подавляющую рост планктонных клеток). Так, минимально ингибирующая концентрация (МИК) для планктонных клеток *C. albicans* составила для флуконазола 25 мкг/мл, для тербинафина 3,1 мкг/мл, для мирамистина 200 мкг/мл, для бензалкония хлорида 12,5 мкг/мл. МИК препаратов в отношении монобиопленки *C. albicans* составила: 400 мкг/мл, 100 мкг/мл, 800 мкг/мл, 100 мкг/мл соответственно. Анализ жизнеспособности клеток внутри моно- и микст биопленок показало, что клетки внутри сложноорганизованных (поливидовых) биопленок способны еще в несколько раз увеличивать устойчивость к противомикробным препаратам. Так, например МИК к ципрлфлоксацину для *S. aureus* в биопленке совместно сформированной с грибами *C. albicans* составила 800 мкг/мл, тогда как в монобиопленке 100 мкг/мл. Клетки грибов *C. albicans* в микстбиопленке сформированной совместно с *S. aureus*, увеличили степень резистентности к антимикотикам более чем в 4 раза.

Таким образом, клетки бактерий и грибов внутри сложноорганизованных биопленочных структур приобретают устойчивость к высоким концентрациям препаратов. По видимому это связано с некоторыми особенностями взаимодействия

микроорганизмов внутри биопленки. Нами было замечено что под воздействием препаратов нацеленных на определенный микроорганизм, например флуконазол, в структуре биопленки происходили изменения клетки бактерий занимали верхнюю часть при этом грибковые клетки оказывались как бы одеты в бактериальный матрикс. Визуализацию объектов проводили с помощью Carl Zeiss LSM 780 конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (Carl Zeiss, Jena, Германия). Также, влияние метобалитов бактерий приводило к изменению морфологической формы грибковых клеток, и как следствие рецепторные изменения. Это способствовало дальнейшей адгезии бактериальных клеток на гифы грибов, что количественно увеличивало плотность биопленки.

В связи с проведенными исследованиями можно сделать вывод о целесообразности расширить исследование по оценке уровня резистентности к антимикробным препаратам среди штаммов, выделенных у больных хроническими и рецидивирующими формами инфекций, ассоциированных с биопленками. Поскольку необходимо оптимизировать выбор антимикробной терапии с учетом возможности процесса биопленкообразования микробными консорциумами.

БИОХИМИЧЕСКОЙ СОСТАВ ЖЕЛЧИ У ДЕТЕЙ РЕКОНВАЛЕСЦЕНТОВ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА «А»

Маматмусаева Ф.Ш.

BIOCHEMICAL COMPOSITION OF BILD IN CHILDREN WITH RECONVALESCENTS OF VIRAL HEPATITIS "A"

Mamatmusaeva F. Sh.

Кафедры Микробиология, вирусология и иммунология ТМА,
г.Ташкент, Узбекистан

Вирусный гепатит А (ВГА) является одной из актуальных проблем мирового здравоохранения, прежде всего, это связано с высоким уровнем распространения этой инфекции: до 30% в развитых странах и до 100% в развивающихся странах, гиперэндемичных по гепатиту А. Среди всех острых вирусных гепатитов на долю ВГА приходится более 50% случаев.

Цель исследования: Определить биохимического состава желчи у детей реконвалесцентов вирусного гепатита А (рВГА). Клиническая часть исследования проводилась в периоде 2017-2018 г.г. в детском объединении Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра терапии и медицинской реабилитации МЗ РУз.

Материалы и методы исследования: В исследование было включено 60 детей рВГА с патологией желчевыводящих путей и 10 практически здоровые дети в качестве контрольной группы. Больные были распределены на 3 группы в зависимости от метода лечения: 1-ю группу составляет 20 больных рВГА находившихся на диетическом питании (диета №5); 2-ю группу – 20 больных рВГА получавшие физиотерапевтическое лечение; 3-ю группу – 20 больных: рВГА получавшие физиотерапевтическое лечение и препарат Фосфоглив (по 1-2 капсулы 3 раза в сутки).

Оценку желчевыделительной функции печени проводили методом фракционного дуоденального зондирования. Проводился анализ дуоденального сока до, вместе и после введения 33% сернокислой магнезии. Для изучения биохимических параметров желчи исследовали порцию «С» желчи. Определение спектра желчных кислот проводили методом тонкослойной хроматографии. Исследование биохимического состава желчи включало определение таких его ключевых компонентов, как билирубин, холестерин и желчные кислоты, с выведением холатохолестеринового коэффициента.

Результаты исследования: У всех 60 детей рВГА в период ранней реконвалесценции в биохимическом составе желчи уровень билирубина было выявлено снижение в два раза ($P < 0,05$), а желчных кислот на 68%, увеличение холестерина на 30%, это привело к снижению холатохолестериновый коэффициент (ХХК) в 2 раза по сравнению с контрольной группы. Спектра желчных кислот у рВГА, по сравнению с аналогичными показателями желчи здоровых лиц, также выявили достоверные изменения в исследуемых показателях. Прежде всего, обращало на себя внимание увеличение у рВГА доли конъюгированных с таурином и глицином холиевых кислот и соответственное снижение пула конъюгированных деокси- и хенодеоксихолиевых кислот. Например, если у здоровых лиц соотношение холиевых и деоксихолиевых (дезокси- и хенодезоксихолиевая кислоты) было равно 1:2,2, а у рВГА 1:0,84 или, иначе говоря, наблюдается значительное увеличение пула гидрофобных холиевых кислот в желчи. У остальных 20 детей рВГА не выявлено грубых нарушений биохимического состава желчи, в связи, с чем мы объединили таких больных в группу больных без патологии желчевыводящих путей ($n=20$).

При определении фосфолипидного состава желчи у рВГА было отмечено снижение в составе желчи количества фосфолипидов в 2,2 раза по сравнению с показателями здоровых лиц. В спектре фосфолипидов у рВГА было отмечено достоверное снижение пула фракции ФХ на 37,6%, при почти четырехкратном увеличении пула высокотоксичной фракции ЛФХ.

Таким образом, исследования показали, что у рВГА в биохимическом составе желчи отмечается снижение содержания билирубина, желчных кислот, коэффициента ХХК и увеличение содержания холестерина. Также увеличение доли гидрофобных желчные кислоты (ЖК) при снижении доли гидрофильных ЖК и снижение содержания фосфолипидов желчи, в основном, за счет фракции ФХ, по сравнению с биохимическим составом желчи здоровых лиц.

ВЛИЯНИЕ ТЕРМОУСТОЙЧИВЫХ РАС ХЛЕБОПЕКАРНЫХ ДРОЖЖЕЙ НА АУТОХТОННУЮ МИКРОФЛОРУ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ

Михайлова Л. В., Жолобова Н. Е., Аккузина С.Г.

INFLUENCE OF HEAT-RESISTANT RACES OF BAKERY YEAST ON AUTOCHTONIC MICROFLORA OF THE ORAL CAVITY

Mikhailova L.V., Zholobova N.E., Akkuzina S.G.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кировский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Киров

Аутохтонную микрофлору ротовой полости формирует более 100 видов микроорганизмов. В процессе сосуществования между ассоциантами возникают симбиотические и антогонистические отношения. Транзиторная микрофлора может попадать в ротовую полость с пищей, воздухом, через руки, предметы.

Цель работы: изучение видов межмикробных взаимодействий культуры *Saccharomyces cerevisiae*, выделенной из пшенично-ржаного хлеба и постоянной микрофлорой ротовой полости.

Материалы и методы

Объектами исследований стали: культура дрожжевых клеток вида *Saccharomyces cerevisiae* и микрофлора ротовой полости. В исследовании использовались бактериоскопический и бактериологический методы. Взятые из ротовой полости пробы были посеяны на среды Сабуро, лактобакагар (ЛБА), Бифидум-среду и мясо-пептонный агар (МПА). Посевы помещали в термостат 37° с экспозицией 24 часа. Дрожжевые клетки изолировали путем внесения кусочка хлеба в мясо-пептонный бульон (МПБ). Далее провели пересев с МПБ на среду Сабуро и культивировали при 24°С в течение 72 часов. Выделенные культуры микроорганизмов окрашивали по Граму и микроскопировали при увеличении $\times 1000$. Вид микроорганизмов устанавливали путем постановки полимеразной цепной реакции. Типы межмикробных взаимодействий определяли совместным выращиванием полученной культуры *Saccharomyces cerevisiae* с идентифицированными микроорганизмами из ротовой полости на солевом агаре и МПА. Учет результатов осуществляли визуально.

Результаты исследования

На МПА были выделены: R-колонии среднего размера белого цвета, микроорганизмы сформировавшие их морфологически представляли кокковидные бактерии, располагающиеся парами, по Граму окрашивались отрицательно,

идентифицированные как *Veillonella*; S-колонии среднего размера серо-белого цвета – грамположительные кокки в цепочку – *Streptococcus mitis*.

Крупные колонии S-формы молочного цвета и мелкие колонии серо-белого цвета зафиксированы на лактобакагаре. По морфологическим свойствам это были крупные овальные почкующиеся грамположительные клетки и кокки, располагающиеся скоплениями. По результатам ПЦР, изолированные микроорганизмы являлись грибом *Candida albicans* и культурой *Staphylococcus saprophyticus*.

Также рост гриба *Candida albicans* отмечали на среде Сабуро, здесь же присутствовали колонии более мелкого размера белого цвета, состоящие из грамположительных коротких толстых палочек, располагающихся в виде длинных цепочек – *Bifidobacterium longum*. На Бифидум среде бактерии сформировали колонии в виде длинных «комет».

Совместное культивирование микроорганизмов проводили на МПА и солевом агаре. На МПА при сочетании *Streptococcus mitis*, *Veillonella* и *Saccharomyces cerevisiae* отмечали еле заметный рост кокковой микрофлоры; но дрожжевые клетки хлеба усиливали рост гриба *Candida albicans*. Надо отметить, что угнетение роста кокков возможно из-за отсутствия факторов роста для этих микроорганизмов в МПА. При культивировании *Staphylococcus saprophyticus* и *Saccharomyces cerevisiae* на среде выявили активный рост стафилококка, т.к. метаболиты дрожжей обогатили агар.

Среды с добавлением соли являются селективными для стафилококков и дрожжевых грибов. Одновременное присутствие на среде *Veillonella*, *Candida albicans* и *Saccharomyces cerevisiae* угнетало рост последнего и вейлонеллы.

При добавлении в Бифидум среду культуры *Bifidobacterium longum* и *Saccharomyces cerevisiae* и дальнейшем культивировании посевов, наблюдали диффузное помутнение среды. Затем были изготовлены мазки, окрашены по Граму, в поле зрения микроскопа присутствовали только стрептобактерии.

Выводы

1. В результате бактериологических исследований из ротовой полости выделены резидентные микроорганизмы: *Candida albicans*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Bifidobacterium longum*, *Streptococcus mitis*, *Veillonella*.

2. Установлено присутствие в хлебобулочной продукции термоустойчивых дрожжевых клеток вида *Saccharomyces cerevisiae*.

3. Полученные данные указывают на метабиотический тип взаимодействия между термоустойчивыми дрожжевыми клетками и антогонизмом с пробиотическими микроорганизмами и грибом *Candida albicans*.

4. Таким образом, длительное присутствие в ротовой полости термоустойчивых дрожжей может усилить рост и размножение кокковой микрофлоры с последующим развитием кариеса.

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ В ПОЧВЕ

Мухаммадиев Б.К.¹, Курбанмуратов Ф.Б.²

STUDY OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF MYCELIAL FUNGI IN SOIL Mukhammadiev B.K., Kurbanmuratov F.B.

¹к.б.н., доцент, Ташкентский государственный аграрный университет,
²студент, Филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Астраханский государственный технический университет» в Ташкентской области Республики Узбекистан

Хорошо известно, что клетки бактерий, грибов и высших растений в отличие от клеток животных обладают, как правило, очень мощными клеточными стенками. Это связано с необходимостью противостояния этими организмами многочисленным биологическим, химическим и физическим факторам среды их обитания. Вместе с тем для проведения многих экспериментов в области современной клеточной и молекулярной биологии необходимо иметь "голые", лишенные толстых клеточных стенок клетки этих организмов. Такие "голые" клетки, или "протопласты", широко используют для опытов по слиянию клеток, для различных генноинженерных манипуляций и т.д. В связи с этими проблемами пристальное внимание ученых уже давно привлекают специфические ферменты (биологические катализаторы белковой природы), способные разрушать (лизировать) клеточные стенки бактерий, грибов и высших растений. Кстати говоря, с развитием работ по ферментативному лизису клеточных стенок этих организмов в значительной степени связан достигнутый к настоящему времени прогресс в изучении строения и функционирования поверхностных структур таких клеток. Оказалось, что разрушающие клеточные стенки (литические) ферменты находятся в значительном количестве в самих этих структурах, в непосредственной близости от объектов своего действия. Такие ферменты называются эндогенными (внутриклеточными). Кроме того, установлено, что часть литических ферментов является экзогенными, то есть секретируемыми (выделяемыми) в среду обитания образующих их организмов [7; с.215, 8; с.23-31].

Ферменты играют разнообразные и часто центральные роли в клеточном метаболизме, питании и морфогенезе. Также они могут отвечать за постсекреционный процессинг множества форм внеклеточных гидролитических ферментов микроскопических грибов. Особенности экологии микроорганизмов определяются их преимущественно биологическим взаимодействием со средой обитания. Обладая высокой биологической активностью, микроорганизмы участвуют в процессах

деструкции и минерализации органического вещества как природного, так и антропогенного происхождения. Особую актуальность разрушающая способность микроорганизмов приобрела в последние десятилетия в связи с накоплением в биосфере устойчивых загрязнителей антропогенного происхождения, причем нередко в масштабах, превышающих природную самоочищающую способность. Человек создал такие соединения, которые не разрушаются в природе в обычных условиях, – синтетические полимеры, красители, пестициды и т.д. [1, с.224; 2; 3; 4; 5. с.887; 6, с.223].

Для достижения ожидаемых результатов необходимо создать условия для воздействия ферментов, выделяющихся из актиномицетов, на почвенные грибы и повышения их биологической активности. В опыте мы доказали, что количество 20 мг/мл (рН 7,0) растворяющего фермента, выделяющая бактерия *Streptomyces afganiensis* влияет на почвенные грибы. С помощью этого фермента, если почвенные грибы подвергаются воздействию в течение 4 часов, происходит изменение их мицелия и клетки без оболочек начинают отделяться из мицелия.

Было установлено, что клетки, отделенные от мицелия, отличаются друг от друга по объему. Форма первоначально сформированных клеток была несколько больше, то есть 3,5–4 мкм, в то время как в конце опыта образовались мелкие, 1,5 - 2 мкм крупные клетки. Таким образом, на основании опыта действие фермента-растворителя определяется отделением мицелиев грибов на фрагменты разного размера и отделением от них клеток. Других различий в формировании клеток в опыте не наблюдалось. Было замечено, что оптимальная температура для отделения клеток составляет 28-30⁰ С. Осмотические стабилизаторы использовались для поддержания отделенных клеток без оболочки. В качестве стабилизатора мы использовали 0,4 и 0,7 М раствор NaCl, одинаковый для обоих грибов. Опыты показали, что для клеток гриба *Aspergillus terreus*-7 0,7 М NaCl, для *Trichoderma harzianum*-10 0,4 М раствор NaCl является удобным стабилизатором

Известно, что реакция питательной среды оказывает значительное влияние на устойчивости клеток. В нашем опыте было доказано, что для устойчивости клеток удобно иметь питательную среду рН 6,0-7,0.

После образования клеток мы провели опыты по восстановлению клеточной стенки. В опыте было доказано, что питательная среда Чапека, в которую добавляли 7 М раствора сахарозы для восстановления ее оболочки из клеток, отделенных от мицелия грибов *Aspergillus terreus*-0,4 и *Trichoderma harzianum*-10, была оптимальной. У обоих грибов количество восстановленных клеток составляло 90-95% по сравнению с общим количеством клеток в суспензии.

Использованная литература:

1. Ивков В. Г., Берестовский Т. Н. Липидный бислой биологических мембран / Отв. ред. чл.-корр. АН СССР Л. Д. Бергельсон; Институт биологической физики АН СССР. — М.: Наука, 1982. — 224 с. — (Теоретическая и прикладная биофизика).
2. Рубин А. Б. Биофизика, учебник в 2 тт. — 3-е изд., испр. и доп. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 2004. — ISBN 5-211-06109-8. 464 с
3. Bruce Alberts, et al. Molecular Biology Of The Cell. — 5th ed. — New York: Garland Science, 2007. — ISBN 0-8153-3218-1. — учебник по молекулярной биологии на английском языке
4. Петрова, Н.Т. Разработка технологии получения препарата литических ферментов, расщепляющих клеточные стенки дрожжей и микроскопических грибов, с использованием мутантного штамма *Streptomyces griseinus* 11-84. автореф. кан. тех. наук. 2005
5. Джеймс, М. Джей. Современная пищевая микробиология (Modern Food Microbiology) / Джеймс М. Джей, Мартин Дж. Лёсснер, Дэвид А. Гольден; пер. с англ. Е.А. Барановой [и др.]. — М.: БИНОМ, 2012. — 887 с.
6. Машанов, А.И. Биоконверсия растительного сырья: учеб. пособие / А.И. Машанов, Н.А. Величко, Е.Е. Ташлыкова; Краснояр. гос. аграр. ун-т. — Красноярск: Изд-во КрасГАУ, 2014. — 223 с.
7. Захарова И.Я., Павлова И.Н. Литические ферменты микроорганизмов. Киев: Наук. думка, 1985. 215 с
8. Кулаев И.С. Бактериолитические ферменты микробного происхождения в биологии и медицине // Соросовский образовательный журнал, 1997, №3, с. 23-31.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ НЕТУБЕРКУЛЕЗНЫХ МИКОБАКТЕРИЙ СРЕДИ ПАЦИЕНТОВ С ВИЧ-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ СТАТУСОМ В РЕСПУБЛИКЕ МАРИЙ ЭЛ

Петрова Л.В.^{1,2}, Петров И.В.², Фазылов В.Х.³, Петрова Ф.С.^{1,2}, Амирова Т.Х.², Севастьянова Э.В.⁴

IDENTIFICATION OF NON-TUBERCULOSIS MYCOBACTERIA AMONG HIV-POSITIVE PATIENTS IN THE REPUBLIC OF MARIY EL

Petrova L.V.^{1,2}, Petrov I.V.², Fazylov V.Kh.³, Petrova F.S.^{1,2}, Amirova T.Kh.², Sevastyanova E.V.⁴

¹ Республиканский противотуберкулезный диспансер Министерства здравоохранения Республики Марий Эл, г. Йошкар-Ола

² Марийский государственный университет, г. Йошкар-Ола

³ Казанский государственный медицинский университет, г. Казань

Нетуберкулезные микобактерии (НТМ) повсеместно распространены в окружающей среде и рассматриваются как сапрофиты или условно-патогенные бактерии, относящиеся к группе грамположительных, кислотоустойчивых, неспорообразующих бактерий, представителей рода *Mycobacterium*. В настоящее время в группу НТМ входят более 200 видов, из которых около 50 являются возбудителями болезни – микобактериоза, клинически и рентгенологически схожего с туберкулезом [1].

Анализ материалов зарубежной и отечественной литературы показал, что распространение ВИЧ-инфекции сопровождается увеличением числа заболеваний микобактериозом, особенно на поздних стадиях ВИЧ-инфекции, что определяет микобактериоз как СПИД-индикаторную инфекцию [2].

Ряд исследователей указывают, что на первом месте среди случаев микобактериоза по частоте выявления у пациентов с ВИЧ-инфекцией находится микобактериоз, вызванный *M. avium complex (MAC)* [3]. *MAC*-инфекция проявляется в виде генерализованного процесса в данной группе пациентов и приводит к летальному исходу. Увеличение заболеваемости диссеминированной *MAC*-инфекцией приходится на 1980-е гг., когда началась эпидемия ВИЧ-инфекции. Частота идентификации микобактериоза сильно варьирует на разных территориях. Зарубежными исследованиями установлено, что *MAC*-инфекция ассоциировалась со стадией СПИДа в 10 % случаев в Швеции, в 22 % – в Германии, до 24 % – в Англии. В США при аутопсии *MAC*-инфекция была выявлена в 55 % случаев.

Из-за схожести клинической картины и лабораторно-инструментальных данных микобактериоза с другими оппортунистическими инфекциями, в частности с туберкулезом и цитомегаловирусной инфекцией, дифференциальная диагностика у ВИЧ-инфицированных пациентов вызывает трудности. В настоящее время в России окончательная идентификация НТМ проводится только лабораториями фтизиатрического профиля и практически невозможна в других лечебных организациях. Имеется ряд проблем корректной трактовки результатов бактериологических исследований на микобактериоз. При лабораторном исследовании культуры НТМ существует вероятность, что полученный положительный результат может указывать как на связь выделенных НТМБ с патологическим процессом, так и на возможную контаминацию образца из внешней среды или бессимптомную колонизацию органов и систем больного. В связи с этим требуется обеспечение противоэпидемического режима в бактериологических лабораториях, в том числе при проведении микробиологического мониторинга объектов среды в самой лаборатории [4,5].

Материал и методы

Проанализированы случаи микобактериоза среди пациентов с ВИЧ-инфекцией, обследованных в Республиканском противотуберкулезном диспансере Министерства здравоохранения Республики Марий Эл. Культуры НТМ были получены на жидкой

питательной среде в системе ВАСТЕС MGIT и на плотной питательной среде Левенштейна-Йенсена. Первичную идентификацию выделенных культур проводили с использованием иммунохроматографического теста (ID-test BD MGIT™ TBc Identification Test, США) и с помощью микроскопического исследования препаратов культур с окраской по Цилю-Нильсену. Видовую идентификацию микобактерий осуществляли с использованием ДНК стриповой технологии, основанной на множественной обратной гибридизации с ДНК-зондами: тест-системы для идентификации НТМБ GenoType® *Mycobacterium* CM/AS (Hain Lifescience, Германия). При обработке полученных результатов использованы методы вариационной статистики и графоаналитики.

Результаты и обсуждение

За весь период регистрации ВИЧ-инфекции на территории Республики Марий Эл (первые случаи ВИЧ-инфекции регистрируются в Республике с 1990 года) было выявлено 6 случаев микобактериоза, ассоциированного с ВИЧ-инфекцией, среди пациентов, диагностический материал которых был направлен в Республиканский противотуберкулезный диспансер Республики Марий Эл. Средний возраст пациентов составил 30,6 лет, 4 случая выделения НТМ среди пациентов мужского пола, 2 – у женщин. У трех пациентов был установлен микобактериоз (возбудитель - *M. avium*). В остальных случаях были установлены микст-инфекции, вызванные НТМ и микобактериями туберкулеза (у 2 пациентов возбудителем являлся *M. avium*, 1 - *M. gordonae*).

Заключение

Ряд отечественных и зарубежных научных работ указывают, что лидирующую позицию среди случаев микобактериоза по частоте выявления у пациентов с ВИЧ-инфекцией находится микобактериоз, вызванный *MAC*. В настоящем исследовании полученные результаты свидетельствуют, что в Республике Марий Эл преобладающим возбудителем микобактериальной инфекции среди пациентов с ВИЧ-положительным статусом является *M. avium*. Данный факт требует более активной диагностики когорты иммунокомпрометированных пациентов на факт «носительства» НТМ.

Литература

1. Микробиологические и эпидемиологические особенности микобактериозов / И. В. Петров, Т. Х. Амирова, Л. В. Петрова [и др.] // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2020. – Т. 19. – № 3. – С. 89-94. – DOI 10.31631/2073-3046-2020-19-3-89-94.
2. Н.В. Фоменкова, О.Н. Леонова, Т.Н. Виноградова, Т.Ф. Оттен. Атипичный микобактериоз – оппортунистическое заболевание у больных с ВИЧ инфекцией. Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. - 2011. - № 3. – с. 52-57.

3. Микобактериоз: обзор доказанных клинических проявлений у человека / Ф. С. Петрова, И. В. Петров, Т. Х. Амирова, Л. В. Петрова // Вестник Авиценны. – 2020. – Т. 22. – № 3. – С. 482-488. – DOI 10.25005/2074-0581-2020-22-3-484-490.

4. Проблемы эпидемиологии и диагностики микобактериоза среди иммунокомпрометированных пациентов (на примере ВИЧ-инфекции) / И. В. Петров, Т. Х. Амирова, Л. В. Петрова, Ф. С. Петрова // Вестник Центрального научно-исследовательского института туберкулеза. – 2019. – № S1. – С. 43-44. – DOI 10.7868/S2587667819050200.

5. Смирнова Т. Г., Андреевская С. Н., Ларионова Е. Е. и др. Мониторинг видового разнообразия нетуберкулезных микобактерий в ряде областей РФ с использованием ДНК-стрипов GenoType Mycobacterium CM/AS (Hain Lifescience, Германия). Туберкулёз и болезни лёгких. 2017;95(5):54–59.

ИЗУЧЕНИЕ НАПРЯЖЕННОСТИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА К SARS-COV-2 У МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ В ДИНАМИКЕ ВОСЬМИ МЕСЯЧНОГО НАБЛЮДЕНИЯ

*Решетникова И.Д.^{1,2}, Агафонова Е.В.^{1,3}, Хакимов Н.М.^{1,3}, Исаева Г.Ш.^{1,3},
Зиатдинов В.Б.¹*

STUDY OF THE STRENGTH OF THE HUMORAL IMMUNE RESPONSE TO SARS-COV-2 IN MEDICAL WORKERS IN THE DYNAMICS OF EIGHT MONTHS OF OBSERVATION

*Reshetnikova I.D.^{1,2}, Agafonova E.V.^{1,3}, Khakimov N.M.^{1,3}, Isaeva G.Sh.^{1,3},
Ziatdinov V.B.¹*

¹ ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, Казань, 420015, г. Казань, ул. Большая Красная, 67, Россия

² ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, ул. Кремлёвская, 18, Россия

³ ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», г. Казань, 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49, Россия

Проведено выборочное изучение уровней IgM и IgG у 85 медицинских работников (МР) многопрофильной медицинской организации (МО) г.Казани в динамике наблюдения с июня 2020г по февраль 2021г.

Материалы и методы. Для определения IgG использовался двухстадийный прямой вариант твердофазного ИФА и тест – система «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ», Россия.

Результаты и обсуждение. При изучении формирования индивидуального гуморального иммунного ответа было показано, что динамика средне-геометрических титров IgM к вирусу SARS-CoV-2, начиная от дня с впервые полученным положительным результатом, описывалась уравнением $y = 0,0091x^4 - 0,1545x^3 + 0,9803x^2 - 2,8507x + 4,8556$ и показала среднемесячный темп снижения -13,38553444%. Наиболее быстрое снижение титров IgM наблюдалось через один месяц после выявленной сероконверсии. В дальнейшем на протяжении четырех месяцев снижение титров IgM было более равномерным. Динамика средне-геометрических титров IgG к вирусу SARS-CoV-2 показала тренд роста со среднемесячным темпом прироста 4,202649916%. Наблюдение за напряженностью индивидуального иммунитета к SARS-CoV-2 на протяжении восьми месяцев, начиная с момента сероконверсии, показало увеличение титров IgG и уменьшение титров IgM, что можно рассматривать как результат формирования гуморального иммунного ответа. Тренд к увеличению IgG, возможно, связан с периодической стимуляцией антигенами SARS-CoV-2 в силу профессиональных контактов МР на фоне сформировавшегося Т-клеточного иммунного ответа.

При изучении коллективного гуморального иммунного ответа среди МР данной МО в динамике наблюдения с июня 2020г по февраль 2021г. средние геометрические титры IgM к вирусу SARS-CoV-2 имели тенденцию снижения, среднемесячный темп снижения -5,948107448%. Средние геометрические титры IgG к вирусу SARS-CoV-2 также имели тенденцию снижения, среднемесячный темп снижения -2,732927843%. Снижение напряженности коллективного иммунитета по IgG и IgM за исследуемый период среди МР МО указывает на снижение активности протекания эпидемического процесса и уменьшение числа новых случаев заражения в данной когорте.

Изучение уровня гуморального иммунитета к SARS-CoV-2 у МР имеет важное значение с точки зрения планирования как противоэпидемических мероприятий, так и прогнозирования эффективности ответа на вакцинацию к SARS-CoV-2.

ИЗУЧЕНИЕ СЕРОПРЕВАЛЕНТНОСТИ К ВИРУСУ SARS-COV-2 СРЕДИ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ

*Решетникова И.Д.^{1,2}, Агафонова Е.В.^{1,3}, Тюрин Ю.А.^{1,3}, Куликов С.Н.^{1,2},
Исаева Г.Ш.^{1,3}, Зиятдинов В.Б.¹*

STUDY OF SEROPROVALENCE TO SARS-COV-2 VIRUS AMONG MEDICAL PROFESSIONALS

*Reshetnikova I.D.^{1,2}, Agafonova E.V.^{1,3}, Tyurin Yu.A.^{1,3}, Kulikov S.N.^{1,2},
Isaeva G.Sh.^{1,3}, Ziatdinov V.B.¹*

¹ ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, Казань, 420015, г. Казань, ул. Большая Красная, 67, Россия

² ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, ул. Кремлёвская, 18, Россия

³ ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», г. Казань, 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49, Россия

⁴ Казанская государственная медицинская академия - филиал ГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, 420012, г. Казань, ул. Муштары, 11, Россия

Проведено выборочное изучение серопревалентности к вирусу SARS-CoV-2 среди 348 медицинских работников (МР) 10 медицинских организаций (МО) г. Казани.

Материалы и методы.

Первая группа МО (предполагаемый «высокий риск») включала 7 многопрофильных стационаров, которые были перепрофилированы для оказания медицинской помощи больным коронавирусной инфекцией (МС 1-7). Вторая группа (предполагаемый «умеренный риск») включала станцию скорой медицинской помощи (СМП) и МО, осуществляющую амбулаторно-поликлиническую деятельность (АПП). Третья группа (предполагаемый «низкий риск») - специализированную поликлинику (СП). Среди обследованных по профессиональному признаку выделены группы «Врачи», «Медицинские сестры», «Младший медицинский персонал», «Прочие медицинские работники». Возрастная структура серопревалентности изучалась в группах 18-29, 30-39, 40-49, 50-59 и 60-69 лет. Для определения IgG использовался двухстадийный прямой вариант твердофазного ИФА и тест – система «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ», Россия.

Результаты и обсуждение.

На момент исследования и за предшествующие три месяца у обследуемых МР отсутствовали симптомы ОРВИ и инфекции дыхательных путей; были отрицательными результаты исследования мазков из носоглотки/ротоглотки на наличие РНК SARS-CoV-2. Серопревалентность по IgG к вирусу SARS-CoV-2 для различных МО г. Казани варьировала в пределах 3,3-30,8% и в среднем составила 16,4 %. В первой группе – 3,3-30,3% (средняя – 16,3%), во второй группе 15,0- 27,5% (средняя 23,3%) и в третьей группе -6,1%. Среди МР с серопозитивными результатами отмечается превалирование доли лиц с бессимптомной формой COVID19 и очень высоким КП ($49,1 \pm 3,4$), что характеризует высокий уровень противовирусных антител. Максимальный показатель отмечен в возрастных группах - 18-29 лет (21%) и 60-69 лет (18,2%). По профессиональному признаку показан сопоставимый уровень серопревалентности по категориям «Врачи» и «Медицинские сестры» с широким варьированием показателей в профессиональных группах в зависимости от конкретной медицинской организации.

Выводы:

Результаты серологического мониторинга с учётом возрастных и профессиональных аспектов могут служить основой для корректирования профилактических мероприятий на базе отдельных МО, с учётом рекомендаций Роспотребнадзора и подбора контингентов для вакцинации к SARS-CoV-2. Наличие среди МР высокой доли серопозитивных лиц, перенесших бессимптомную форму COVID19, подтверждает высокую интенсивность скрыто протекающего эпидемического процесса, что необходимо учитывать при организации профилактических мероприятий, и подтверждают актуальность дальнейшего проведения серологического мониторинга в МО различного профиля.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ВЫДЕЛЕНИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИМИКРОБНОГО БЕТА 1 ДЕФЕНЗИНА ИЗ ПЛАЦЕНТАРНОЙ ТКАНИ

Рубайло М.В., Базиков И.А. Мальцев А.Н., Седых О.И.

DEVELOPMENT OF METHODS FOR ISOLATION AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL BETA 1 DEFENSIN FROM PLACENTAL TISSUE.

Rubailo M.V., Bazikov I.A. Maltsev A.N., Sedykh O.I.

¹Ставропольский государственный медицинский университет, г.Ставрополь

Введение. В настоящее время в связи с развитием пандемии коронавируса во всем мире, поиск противовирусных препаратов является наиболее актуальным. Показано, что бета1 дефензин обладает противовирусной активностью. Одним из механизмов противовирусной активности hBD-1 основан на блокировании проникновения вирусов в клетки тканей [1-3]. В настоящее время при изучении патогенеза заболеваний, вызванных короновирусом были зафиксированы случаи рождения здоровых детей больными короновирусом матерями. В связи с чем создание новых лекарств, особенно на фоне глобальной проблемы снижения эффективности обычных антибиотиков, противогрибковых и противовирусных препаратов. Ранее нами разработаны способы получения ниосомальных форм антимикробных и противогрибковых препаратов [4-9]. Целью нашей работы является разработка способа выделения и количественного определения бета1 дефензина из ткани плаценты.

Материалы и методы: Ткань плаценты хорошо промывается физраствором и удаляются остатки крови 6% раствором перекиси водорода. Ткань мелко размельчается и гомогенизируется с помощью механического а затем и ультразвукового гомогенизатора POLYTRON® PT 45-80 GT швейцарской компании DONAU LAB

ZURICH.. На следующем этапе проводили трипсинизацию плацентарной ткани. Для этого добавляли раствор трипсина (ООО «Биолог» Санкт-Петербург, Россия) и проводили гидролиз плаценты на магнитной мешалке в течение 3 часов при температуре 18-20 С или же 1 час при температуре 37 С. После чего разбавляли добавлением равного объёма холодного (4⁰ С) раствора Хэнкса. На заключительном этапе гидролизат плаценты пропускают через разделительную колонку с краном и фильтром, изготавливаются из стекла Симакс ЧСН ИСО 3585. На поверхность фильтра наносили 5 г Сефадекса G-25. При этом низкомолекулярные пептиды проникать внутрь частиц Сефадекса G-25. В это время большие частицы и высокомолекулярные пептиды проходят мимо частиц Сефадекса G-25. Вследствие этого скорость прохождения веществ через колонку с наполнителем будет различной для пептидов различной молекулярной массой. Так высокомолекулярные пептиды фильтруются быстрее, а низкомолекулярные задерживаются в колонке и выходят в последней фракции гидролизата. Фракцию содержащую высокомолекулярные пептиды сливают. Низкомолекулярные пептиды, к которым относятся и дефензины вымывали из частиц Сефадекса G-25 раствором холодного (4⁰ С) раствора Хэнкса. Это позволяет оптимизировать технологию выделения наиболее полной фракции, содержащих бета дефензин [10-115]. Нами разработан способ количественного определения дефензинов методом ВЭЖХ [4-15]. Мы получили фракцию бета 1 дефензина из ткани плаценты и провели количественное определение содержания бета 1 дефензина методами ИФА и ВЭЖХ. Для определения концентрации дефензина бета1 в гидролизате плаценты методом ИФА использовали наборы Cloud-Clone Corp (USA), а также методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Для этого использовали хроматограф «Люмахром» (Россия). Измерение проводили при длине волны 214 нм. В качестве подвижной фазы использовали фосфатный буфер pH-7,4. Скорость подачи подвижной фазы 150 мм³/мин. Для построения калибровочной кривой использовали стандарт дефензина-бета1 из наборов Cloud-Clone Corp. (США). Верификацию полученных результатов проводили согласно рекомендации по межгосударственной стандартизации Государственная система обеспечения единства измерений [16].

Рассчитываем среднеарифметическое значение \bar{X}_{ml} и выборочную дисперсию S^2_{ml} результатов единичного анализа содержаний компонента в m -м ОО, полученных в условиях повторяемости (параллельных определений). На основе полученных значений выборочных дисперсий $S^2_{m1}, \dots, S^2_{mL}$ в m -м ОО проверяем гипотезу о равенстве генеральных дисперсий, используя критерий Кохрена. Значение критерия Кохрена $G_{m(\max)}$, рассчитываем по формуле и сравниваем его с табличным значением этого критерия $G_{\text{табл}}$ для числа степеней свободы $\nu = n - 1$, соответствующего максимальной дисперсии, и $f = L$, соответствующего числу суммируемых дисперсий, и принятой доверительной вероятности $P = 0,95$. Если $G_{m(\max)} > G_{\text{табл}}$, то соответствующее $(S^2_{ml})_{\max}$ из дальнейших расчетов исключаем и процедуру повторяют для следующего по

величине S_{mi}^2 и т.д. до тех пор, пока $G_{m(max)}$, не станет меньше либо равно $G_{табл}$. Не исключённые из расчетов S_{mi}^2 считаем однородными и по ним оцениваем стандартное отклонение повторяемости СКО, характеризующие повторяемость результатов единичного анализа (параллельных определений), полученных для содержания, соответствующего содержанию компонента в m -м ОО. Эти СКО рассчитывают по формуле, где в числе слагаемых нет отброшенных значений и L - число неотброшенных дисперсий. Далее используем результаты анализа, соответствующие неотброшенным дисперсиям, при этом в настоящих рекомендациях использовано обозначение L , соответствующее числу не отброшенных дисперсий. Показатель повторяемости результатов анализа в виде СКО $\sigma_{r,n,m}$ для содержаний, соответствующих содержанию компонента в m -м ОО, устанавливаем, принимая равным $S_{r,m}$. Установленные значения $\sigma_{r,n,m}$ сравнивают со значениями показателя повторяемости методики анализа $\sigma_{r,m}$. В том случае, если $\sigma_{r,n,m} > \sigma_{r,m}$, делают вывод о недостаточном внедрении в лаборатории конкретной методики анализа и определяем мероприятия по проверке соблюдения процедуры анализа. В том случае, если $\sigma_{r,n,m} \leq \sigma_{r,m}$, показатель повторяемости результатов анализа принимают равным $\sigma_{r,m}$. Показатель повторяемости методики анализа в виде предела повторяемости¹⁾ - $r_{n,m}$ для содержания, соответствующего содержанию компонента в m -м ОО, рассчитывают по формуле. Значение предела повторяемости рассчитывают в том случае, если методикой анализа предусмотрено проведение параллельных определений, и используют при проверке приемлемости результатов единичного анализа, полученных в условиях повторяемости. Для оценки показателя внутрилабораторной прецизионности результатов анализа проводим проверку средних значений, $\bar{X}_{m,i}$ на наличие выбросов по критерию Граббса.

Результаты и их обсуждение.

В результате проделанной работы нами получены результаты количественного содержания дефензина бета в гидролизате плаценты методом ВЭЖХ. Так согласно нашим расчетам критерий Кохрена составил 0,039922, согласно табличным данным, его нормальная величина должна составлять - 0,281. Критерий Граббса в нашем эксперименте составил: $GR_{m,max}$ - 2,378614 $GR_{m,min}$ - 1,456398. Критическое значение для числа степеней свободы, соответствующего числу серий результатов анализа, и принятой доверительной вероятности 0,95 согласно табличным данным составляет - 2,709 [15]. Стандартное отклонение повторяемости $S_{r,m}$ - 1,952872; значение предела повторяемости $r_{n,m}$ - 5,40946; показатель внутрилабораторной прецизионности R_{m-5} - 2,3062; показатель точности результатов анализа Δ - 3,701089.

Выводы. Таким образом, в результате проведенной НИР нами разработаны методики выделения и количественного и качественного определения эндогенного бета1 дефензина из плацентарной ткани. Сопоставление полученных результатов методами ИФА с помощью наборов Cloud-Clone Corp (USA) и разработанной нами методики

определения бета1 дефензина с помощью ВЭЖХ показало высокую степень повторяемости результатов определения количественного содержания бета1 дефензина.

Литература

1. Doss, M. Interactions of alpha-, beta-, and theta-defensins with influenza A virus and surfactant protein D/ M. Doss, MR White, T. Tecle, D. Gantz [et al.]// J Immunol.- 2009.- Vol. 182.- Is. 12.- P. 7878-7887.
2. Чалый, Ю.В. Изучение закономерностей индукции синтеза ИЛ-8 под действием нейтрофильных дефензинов *in vitro*/ Ю.В. Чалый, К.В. Котлинский, А.М. Шолух, Н.Н. Войтенко// Медицинская иммунология.- 2005.- Т. 7.- №5-6.- С. 579-582.
3. Suarez-Carmona, M. Defensins: “Simple” antimicrobial peptides or broad-spectrum molecules?/ M. Suarez-Carmona, P. Hubert, P. Delvenne, M. Herfs// Cytokine Growth Factor Rev.- 2015.- Vol. 26.- Is. 3.- P. 361-370с.
4. Базиков И.А., Мальцев А.Н. Кремнийорганические ниосомы с бактерицидными и парамагнитными свойствами. Патент на изобретение RUS 2625722 от 18.07 2017.
5. Базиков И.А., Мальцев А.Н., Седых О.И., Болатчиев А.Д. Разработка ниосомального лекарственного геля с альфа- дефензином hnp-1. В сборнике: Биотехнология: взгляд в будущее. Материалы 4 международной конференции. Ставрополь 2018. С.87-89.
6. Базиков И.А., Мальцев А.Н., Седых О.И., Батурич В.А. Выделение эндогенных антимикробных пептидов из клеток крови. Бактериология. 2020. Т. 5. № 1. С. 33-36.
7. Базиков И.А., Мальцев А.Н. Способы введения природных антимикробных пептидов из лейкоцитарно-эритроцитарно-тромбоцитарной массы крови. Патент на изобретение №2729016 от 04.08.2020.
8. Болатчиев А.Д., Батурич В.А., Базиков И.А. Антимикробный гель для лечения инфицированных ран, ожогов и трофических язв. Патент на изобретение RUS 2655522 от 28.05.2018.
9. Гоял Р.К, Базиков И.А., Наджирул Амин, Базиков Ф.И. Использование геля «Регенерин» для лечения синдрома диабетической стопы. Биотехнология: взгляд в будущее. Материалы 5 международной конференции. Ставрополь, 2019. С. 146-149.
10. Мальцев А.Н., Базиков И.А., Батурич В.А., Ефременко А.А., Лысогора Л.В. Выделение природных антимикробных пептидов из лейкоцитарно-эритроцитарно-тромбоцитарной массы крови. Материалы 6 международной конференции. Москва, 2019. С.138.
11. Мальцев А.Н., Базиков И.А., Седых О.И., Болатчиев А.Д., Ефременко А.А. Выделение антимикробных пептидов из плацентарной ткани // Биотехнология: взгляд в будущее. Материалы 6 международной конференции. Ставрополь, 2020. С. 118.

12. Мальцев А.Н., Бейер Э.В., Базиков И.А., Седых О.И. Изучение острой токсичности ниосомального геля с антимикробными пептидами// Биотехнология: взгляд в будущее. Материалы 6 международной конференции. Ставрополь, 2020. С.105.
13. Седых О.И., Бейер Э.В., Мальцев А.Н., Базиков И.А. Макроскопическое изучение органов животных при применении антимикробных пептидов // Биотехнология: взгляд в будущее. Материалы 6 международной конференции. Ставрополь, 2020. С.108.
14. Хералова Н.И., Базиков И.А., Мальцев А.Н., Седых О.И., Батурин В.А., Рамеш К.Г., Мадху Г., Рубайло М.В., Гуров Д.Ю. Эффект синергии эндогенных антимикробных и низкомолекулярных пептидов в составе ниосомального геля //Волгоградский научно-медицинский журнал. 2020. № 4. С. 33-36.
15. Diskaeva E.I., Vecher O.V., Bazikov I.A., Maltsev A.N. Dispersion analysis of niosomes different composition //Journal of Nanoparticle Research. 2019. Т. 21. № 1, С. 21-23.
16. РМГ 76-2014 ГСИ. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа Рекомендации по межгосударственной стандартизации от 09.07.2014 N 76-2014 Применяется с 01.01.2016 взамен РМГ 76-2004

ВЫЯВЛЕНИЕ JMTV ВИРУСОВ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Савинова А.Н.

IDENTIFICATION OF JMTV VIRUSES IN THE RUSSIAN FEDERATION

Savinova A. N.

ФГБОУ ВО Казанский государственный
медицинский университет
г. Казань

В мае 2021 года сотрудники ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора сообщили об обнаружении вирусов группы Jingmen в различных регионах Российской Федерации.

Ранее сообщалось об идентификации этих вирусов в Узбекистане и Казахстане

Впервые Jingmen tick virus (JMTV) был обнаружен в образцах клещей в городах Jingmen и Wenzhou в Китае в 2010 году. Впоследствии этот вирус, а также подобные ему вирусы (JMTV-like), названные Jingmen вирусами, были выделены из членистоногих и млекопитающих, включая крупный рогатый скот и обезьян в Африке, Азии, Америке и Европе.

В 2016 году в Центральной Америке и Южной Америке из образцов москитов был выделен вирус, генетически сходный с JMTV. Аналогичный вирус был обнаружен в

образцах тканей обезьян в Уганде. В Бразилии в 2018 году вирус, идентичный JMTV был выделен из клещей и материала от крупного рогатого скота, инфицированных клещами.

В 2018 году JMTV был идентифицирован в материале от пациента с геморрагической лихорадкой Крым-Конго, приведшей к летальному исходу, в Косово.

В 2019 году случаи лихорадки вызванной JMTV были зафиксированы в Китае. Вирус был идентифицирован в биоптатах кожи и образцах крови четверых пациентов с помощью секвенирования генома. У всех обследуемых наблюдался зудящий и болезненный струп на месте укуса клеща, что, по мнению исследователей, является клиническим проявлением инфекции, вызванной JMTV.

Серологический метод позволил выявить восемь пациентов с JMTV инфекцией из 509 пациентов, имеющих в анамнезе укус клещей. Состояние их было тяжелым, четверо из них были госпитализированы.

Таким образом, данные различных исследований указывают на глобальное распространение Jingtun вирусов и способность вызывать инфекционные заболевания у людей.

В результате изучения JMTV было обнаружено, что это сложный вирус сферического типа симметрии, геном вируса представлен линейной однонитевой +РНК, состоящей из 4 сегментов (S1, S2, S3 и S4), из которых S1 и S3 содержат гены, гомологичные генам вирусов семейства *Flaviviridae*. Не было обнаружено гомологии между остальными сегментами и последовательностями в геномах других известных вирусов. Кроме того, вирусы группы Jingtun проявляют выраженную генетическую изменчивость.

Резервуаром возбудителей являются различные млекопитающие, чаще всего, грызуны, поскольку они являются естественными хозяевами клещей.

Переносчиком Jingtun вирусов являются клещи. Вирусологическими исследованиями была доказана идентичность JMTV вирусов членистоногих и грызунов.

Переносчиками Jingtun вирусов могут быть и другие членистоногие.

В 2016 году генетически идентичный вирус Guaico Culex virus (GCXV) был обнаружен в образцах москитов в странах Центральной Америки и Южной Америки.

В настоящее время не разработаны препараты для специфической профилактики и этиотропной терапии инфекций, вызванных Jingtun вирусами.

Профилактические меры включают дезинсекцию и защиту от укуса кровососущих насекомых.

МОНИТОРИНГ ПРОВЕДЕНИЯ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ COVID-19 В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН

Савинова А.Н., Соловьева К.В.

COVID-19 VACCINATION MONITORING IN THE REPUBLIC OF TATARSTAN

Savinova A.N., Solovieva K.V.

ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет»
г. Казань

К концу мая 2021 года в мире зарегистрировано около 168 млн. случаев новой коронавирусной инфекции COVID-19.

Вирус Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus (SARS-CoV-2) чаще всего передается аэрогенным путем. Часть людей болеет бессимптомно. У других отмечается изнуряющая гипертермия, поражение легких, нарушение сатурации, гипоксия, потеря обоняния, полное отсутствие вкуса, сердечная недостаточность и ряд других проявлений. В основном в тяжелой форме переносят инфекцию люди с хроническими заболеваниями и пожилые люди.

В ответ на антигены вируса, попавшие в организм человека, происходит активация естественных иммунных механизмов, следствием чего является выработка антител, которые циркулируют в крови лишь несколько месяцев.

Одним из наиболее эффективных методов защиты от COVID-19 является вакцинация. Она позволяет выработать продолжительный искусственный активный иммунитет у людей и предотвратить новые случаи заражения. Благодаря инновационным технологиям и опыту работы с близкородственным вирусом ближневосточного респираторного синдрома (Middle East respiratory syndrome - MERS) ученым за короткие сроки удалось создать эффективные и безопасные вакцины, что позволило провести клинические испытания и запустить их в производство так скоро.

В настоящее время на территории Российской Федерации зарегистрировано четыре вакцины: «Гам-КОВИД-Вак» (торговое название- «СпутникV»), «ЭпиВакКорона», «КовиВак», «Спутник Лайт».

«СпутникV», «ЭпиВакКорона», «Спутник Лайт» являются молекулярными вакцинами, содержат белки SARS-CoV-2.

«КовиВак» относится к числу цельновирионных, поэтому ее введение обеспечивает встречу иммунной системы с «врагом» целиком, а не с отдельными его фрагментами. Благодаря этому образуется наиболее надежная иммунная защита. Риск получения поствакцинальных осложнений практически отсутствует, так как новые вакцины соответствуют всем требуемым стандартам качества.

Целью исследования явилось изучение информированности населения РТ о вакцинации против COVID-19.

Согласно официальным источникам в РФ проживает около 146 млн. людей, к концу мая примерно 28,5 млн. из общего числа прошли вакцинацию.

В Республике Татарстан проживает около 4 млн., примерно 400 тыс. человек привиты против COVID-19.

В анонимном анкетировании приняли участие 93 человека в возрасте 18 лет и старше. Среди них 78 женщин (83,9%) и 15 мужчин (16,1%).

В возрасте от 18 до 20 лет- 27 участников (29%); от 20 до 30 лет - 35 участников (37%); от 30 до 40 лет - 7 участников (8%); от 40 до 50 лет – 21 участник (22%); от 50 лет и старше- 4 участника (4%).

Среди участников анкетирования 57 участников (61,2%) проходят обучение в высших учебных заведениях; 33 участника (35,5%) работают на производстве в коллективе; 2 участника (3,3%) занимаются индивидуальной деятельностью.

Не болели коронавирусной инфекцией в период пандемии 52 участника (56%). 41 участник перенес коронавирусную инфекцию (44%).

Прошли тестирование на наличие антител в крови 70 участников (75,3%), 23 участника не были обследованы (24,7%).

Положительно относятся к внедрению вакцинации среди населения 54 участника (58%), 39 участников - отрицательно(42%) . Не было выявлено зависимости отношения к вакцинации и принадлежности к определенной возрастной группе.

Прошли вакцинацию против COVID-19 2 участника (2,2%), 91 участник не вакцинировался (97,8%).

Не планируют вакцинироваться в ближайшее время 76 участников (81,7%), 17 участников планируют (18,3%).

Также был задан вопрос, который требует развернутого ответа: «Почему вы сторонник вакцинации или же почему вы против нее?». В своем большинстве люди являются сторонниками прививок, но, к сожалению, не доверяют современным антиковидным вакцинам в виду причин коротких сроков, затраченных на их изобретение и боязни серьезных побочных эффектов.

В виду того, что анкетирование целенаправленно было проведено среди лиц, работающих или обучающихся в коллективах, ежедневно контактирующих с большим количеством других людей, число вакцинированных в настоящее время не так высоко, как хотелось бы.

Результаты наводят на мысль о том, что необходимо применять различные способы информирования населения о современных технологиях изготовления вакцин, пропагандировать вакцинацию и преимущества поствакцинального иммунитета.

К сожалению, люди чаще всего используют недостоверные источники информации из социальных сетей.

Вакцинироваться или нет- добровольное решение каждого человека. Однако, чем больше людей будут делать этот ответственный и серьезный шаг, тем быстрее будет сформирован иммунитет среди населения.

И победа над пандемией новой коронавирусной инфекции COVID-19 уже совсем не за горами.

БОРДЕТЕЛЛЫ - ВОЗБУДИТЕЛИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА

Савинова А.Н.

BORDETELLA – CAUSATIVE AGENTS OF INFECTIOUS DISEASES OF HUMAN

Savinova A. N.

**ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет
г.Казань**

Бактерии рода *Bordetella* мелкие грамотрицательные бактерии, аэробы, биохимически малоактивные. По современным данным, различают восемь видов, пять из которых вызывают коклюш и коклюшеподобные заболевания человека: *B.pertussis*, *B.parapertussis*, *B.bronchiseptica*, *B.holmesii* и *Bordetella hinzii*.

Коклюш – острое инфекционное заболевание с приступами спазматического кашля, продолжительностью до нескольких месяцев. Коклюшем болеют как дети, так и взрослые. Наиболее тяжелые случаи отмечают у детей первых месяцев жизни с развитием летальных исходов.

В большинстве случаев симптомы коклюша вызывает *B.pertussis*, примерно в 1-2% случаев выделяют *B.parapertussis*, очень редко идентифицируют *B.bronchiseptica*.

Бактерии видов *B.pertussis* и *B.parapertussis* выявляют только в организме человека, в то время как вид *B.bronchiseptica* является также патогеном животных, включая домашних питомцев, являющихся источником инфекции при бронхосептикозе, протекающем с бактериемией.

Недавно два новых вида *Bordetella hinzii* и *Bordetella holmesii* выделены из образцов крови пациентов. Бактерии данных видов могут вызывать как коклюшеподобные симптомы, так и другие, отличные от симптомов респираторных инфекций, в частности, бактериемию у лиц с иммунодефицитами. *Bordetella holmesii* могут вызвать сепсис и эндокардит у лиц после спленэктомии и пациентов с ВИЧ-инфекцией.

Бактерии вида *Bordetella avium* были выделены только из организма птиц, таких как, домашние индейки. Не были обнаружены в организме людей.

К бордетеллам теперь относят бактерии видов *Alcaligenes faecalis* и *Alcaligenes xylosoxidans* (*A.xylosoxidans* подвид *xylosoxidans* и *A. xylosoxidans* подвид *dentrificans*). Были обнаружены в составе нормальной микрофлоры кишечного тракта людей и животных. Являются условно-патогенными бактериями, способными вызвать

оппортунистические инфекции у лиц с иммунодефицитами, особенно в условиях стационаров. Современные исследования позволили выявить тесную связь между бактериями рода *Bordetella* и рода *Alcaligenes* на основе последовательностей генома, состава жирных кислот и биохимических свойств.

Диагностику заболеваний, вызванных бордетеллами, проводят культуральным методом с использованием материала из носовой полости или с задней стенки глотки, а также путем выявления антител к филаментозному гемагглютининому или коклюшному токсину. Для дифференцировки *B.pertussis*, *B.parapertussis* и *Bordetella holmesii* применяют полимеразную цепную реакцию (ПЦР), позволяющую выявлять бактерии в образцах из дыхательных путей, кишечника и крови.

Бордетеллы проявляют устойчивость к бета-лактамама, аминогликозидам и хинолонам.

Для проведения оптимального лечения необходимо определение чувствительности выделенных штаммов к противомикробным препаратам.

Для специфической профилактики применяют адсорбированную коклюшно-дифтерийно-столбнячную. (АКДС) вакцину. Современная вакцина содержит коклюшный анатоксин, филаментозный гемагглютинин и белок клеточной стенки пертактин.

МУКОРМИКОЗ У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19

Савинова А.Н.

MUCORMYCOSIS IN PATIENTS WITH COVID-19

Savinova A. N.

ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет
Г.Казань

В конце декабря 2019 года у жителей города Ухань провинции Хубэй в Китае были зарегистрированы случаи тяжелой пневмонии неизвестной этиологии.

Власти Китая информировали Всемирную Организацию Здравоохранения (ВОЗ) о вспышке неизвестной пневмонии. Возбудителем оказался вирус семейства *Coronaviridae*, быстрое распространение которого привело к развитию эпидемии не только в Китае, но и во многих странах мира.

В конце января 2020 года ВОЗ объявила эпидемию новой коронавирусной инфекции чрезвычайной ситуацией, имеющей всемирное значение.

В феврале инфекционное заболевание получило название COVID-19, возбудитель был идентифицирован как SARS-CoV-2. 11 марта 2020 года ВОЗ объявила о пандемии COVID-19.

Согласно текущей статистике на 16 июня 2021 года во всем мире всего случаев заражения более 177 миллионов, смертельных случаев почти 4 миллиона, выздоровевших более 161 миллиона, больных около 12 миллионов.

Тяжелые клинические формы COVID-19 наблюдают у пациентов с ожирением, сахарным диабетом, сопутствующими хроническими заболеваниями, а также на фоне иммунодефицитных состояний. После перенесенной инфекции развиваются осложнения, вызванные воздействием на нервную систему, сердце, легкие, печень, поджелудочную железу и другие органы.

Новым серьезным осложнением явились микозы - заболевания, вызванные микроскопическими грибами, в частности, мукомикоз или «черная плесень».

В Индии на фоне второй волны COVID-19 наблюдается эпидемия мукомикоза.

До новой коронавирусной инфекции заболеваемость мукомикозом в Индии была приблизительно в 70 раз выше, чем в других странах.

Во время пандемии COVID-19 появились сообщения о возросшем числе случаев мукомикоза, аспергиллеза и кандидоза в Индии, связанных с иммуносупрессивным действием глюкокортикостероидов, применяемых для лечения коронавирусной инфекции.

Фактором, способствующим развитию инвазивных микозов является также сопутствующий сахарный диабет, которым страдает каждый восьмой житель Индии.

Симптомы мукомикоза появились у пациентов через 10-14 дней после выздоровления. Аналогичные случаи были зафиксированы у пациентов с COVID-19 и в других странах: Пакистане, Непале, Бангладеше, Уругвае, Чили, Парагвае, Иране, Египте, США, Бразилии, и Великобритании.

Микроскопические грибы поражают легкие, слизистую носа и ротовой полости с образованием некротических поражений, глаза с клиническими проявлениями орбитального целлюлита, а также мозг. Иногда заболевание протекает в генерализованной форме.

Согласно официальной статистике в Индии число пациентов с COVID-19 возросло до 29 миллионов, количество летальных случаев более 349 тысяч.

В мае число пациентов с мукомикозом возросло на 150%. Зафиксировано более 30 тысяч случаев в 28 штатах, наибольшее количество в западных штатах Гуджарат и Махараштра, в которых была объявлена эпидемия мукомикоза. У 86% пациентов в анамнезе был COVID-19, у 62% пациентов был сахарный диабет. Летальность высокая – 2 тысячи случаев.

Мукомикоз (зигомикоз, фикомикоз) вызывают грибы семейства *Mucorales* родов *Mucor*, *Rhizopus* и *Rhizomucor*.

В некоторых странах выявлены случаи микозов у пациентов с COVID-19, инфицированных другими грибами, а именно аспергиллез, вызванный грибами рода *Aspergillus* и кандидоз, возбудителем которого является новый вид *Candida auris*.

Микроскопические грибы размножаются в почве, на гниющих овощах и фруктах. Инфицируют животных и людей. Больной человек не является источником инфекции.

В России редкие случаи мукормикоза ранее отмечались у пациентов с иммунодефицитными состояниями, в настоящее время сообщается об единичных случаях развития инвазивных микозов на фоне COVID-19.

Для лечения используют амфотерицин В, позаконазол и изавуконазол.

Специфическая профилактика не разработана.

ВАРИАНТЫ ГЕНОМА ШТАММОВ *PUUMALA ORTHOHANTAVIRUS*, ВЫЯВЛЕННЫЕ У БОЛЬНЫХ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКОЙ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН

*Савицкая Т.А.¹, Давидюк Ю.Н.², Шамсутдинов А.Ф.², Сулейманова С.²,
Кабве Э.^{1,2}, Трифонов В.А.^{3,1}, Исаева Г.Ш.^{1,4}, Решетникова И.Д.^{1,2},
Шакирова В.Г.³, Ризванов А.А.², Хайбуллина С.Ф.²*

VARIANTS OF THE GENOME OF *PUUMALA ORTHOHANTAVIRUS* STRAINS DETECTED IN PATIENTS WITH HEMORRHAGIC FEVER WITH RENAL SYNDROME IN THE REPUBLIC OF TATARSTAN

Savitskaya T.A., Davidyuk Yu.N., Shamsutdinov A.F., Suleimanova S., Kabwe E., Trifonov V. A., Isaeva G. Sh., Reshetnikova I.D., Shakirova V.G., Rizvanov A.A., Khaibullina S.F.

¹ФБУН "Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии" Роспотребнадзора, г.Казань;

² Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань;

³ КГМА – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Казань;

⁴ ФГБОУ ВО "Казанский государственный медицинский университет" Минздрава России, Казань

Актуальность. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) продолжает оставаться наиболее распространенным природно-очаговым заболеванием в Европейской части России. Наибольшее количество заболевших ГЛПС регистрируется в Приволжском федеральном округе (ПФО), в который входит Республика Татарстан (РТ) [1]. ГЛПС представляет собой острую вирусную зоонозную инфекцию, нередко характеризующаяся осложнениями болезни, в отдельных случаях с летальным исходом.

Наиболее часто возбудителем ГЛПС в ПФО является ортохантавирус *Puumala* (PUUV) из рода *Orthohantavirus*, геном которого состоит из трёх сегментов (S, M и L) одноцепочечной (минус)РНК, и основным природным хозяином и переносчиком которого является рыжая полёвка (*Myodes glareolus*). PUUV характеризуется высоким уровнем генетической вариабельности штаммов, что осложняет изучение структуры генома хантавируса. Так, в настоящее время различают восемь генетических линий вируса, из которых две выявлены на территории России. Ранее было показано, что в популяциях рыжей полёвки разных регионов Татарстана циркулируют несколько вариантов генома PUUV, относящихся к русской генетической линии (RUS), которые филогенетически могут быть разделены на шесть субклад, в соответствии с нуклеотидной последовательностью S-сегмента генома. Однако, малоизученным остается как разнообразие и изменчивость генома штаммов PUUV у больных ГЛПС так и связь генома вируса с клиническим течением заболевания. Поэтому целью исследования была молекулярно-генетическая идентификация вариантов генома штаммов PUUV, выявленных у больных ГЛПС на территории Республики Татарстан (РТ).

Разрешение комитета по этике Казанского (Приволжского) федерального университета на проведение исследований было получено на основании статьи 20 Федерального закона "Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации" от 21.11.2011 г. N 323-ФЗ (ред. от 03.08.2018).

Материалы и методы. Общую РНК выделяли из образцов крови и сыворотки больных ГЛПС с использованием реагента TRIzol, вирусную РНК выявляли методом ОТ-ПЦР. Полученные в результате ОТ-ПЦР-амплификации участки генома PUUV продукты секвенировали по Сэнгеру и секвенированные последовательности анализировали с помощью специализированных пакетов программ Lasergene и Megab.

Результаты и обсуждение. Из 201 образца цельной крови и сыворотки крови от больных с установленным диагнозом ГЛПС вирусная РНК была выявлена в 88 образцах. Для 16 штаммов *Puumala orthohantavirus* были получены нуклеотидные последовательности (НП) всей кодирующей области S-сегмента длиной 1302 п.н. и участка M-сегмента длиной 512 п.н.

В результате сравнительного анализа НП S- и M-сегмента было установлено, что по значению идентичности последовательностей 16 выявленных штаммов PUUV можно разделить на 7 групп: А, Б, В, Г, Д, Е и Ж. Группа А состояла из четырёх штаммов, идентичность НП S-сегмента у которых составила от 98,7% до 99,8%. У четырёх штаммов, объединённых в группу Б, значение идентичности НП находилось в интервале от 99,2% до 100,0%. В то же время идентичность НП между штаммами из групп А и Б оказалась ниже – от 96,9% до 97,7%. Для штаммов из группы В, включающей три штамма, значение идентичности НП составило 99,1-99,8%, а для двух штаммов, входящих в группу – 99,8%. Группы Д, Е и Ж содержали только по одному штамму, значения идентичности НП каждого из штаммов этих групп при сравнении со штаммами

из остальных групп не превышали 95,8%.

Значения идентичности НП участка М-сегмента выявленных штаммов в рамках каждой группы незначительно отличались по сравнению с S-сегментом: в группе А значения идентичности НП составили от 99,7% до 99,6%, в группе Б – 99,0-100,0%, в группе В – 98,4-99,8%. При сравнении НП штаммов из разных групп значения идентичности в большинстве случаев были значительно ниже: для групп А и Б они находились в интервале 90,6-91,8%, для групп А и В – 90,8-92,6%, для групп Б и В – 91,4-91,8% и т.д. Поскольку длина CDS S-сегмента более чем в два раза превышает длину анализируемого участка М-сегмента, то можно сделать вывод о большей вариабельности НП М-сегмента по сравнению с S-сегментом в штаммах PUUV, выявленных у больных ГЛПС.

На следующем этапе исследования был проведен сравнительный анализ секвенированных участков генома штаммов PUUV у пациентов с диагнозом ГЛПС и штаммов, ранее выявленных в ряде популяций рыжей полёвки на территории РТ и некоторых регионов ПФО.

В результате сравнительного анализа было установлено, что значение идентичности НП S-сегмента штаммов группы А с НП штамма МЛ118, идентифицированного в районе Обсерватории рядом с западной окраиной г.Казани равнялось 98,8-99,7%. Высокие значения идентичности НП выявлены также при сравнении штаммов группы Г и МЛ066 из Высокогорского района, группы В и МЛ1152 из Тетеевского леса (Лаишевский район), а также группы Ж и МЛ1131 (Пестречинский район) – 99,5%, 99,1-99,8% и 99,8%, соответственно. Несколько меньшие значения идентичности НП получены при сравнении группы Б со штаммами МЛ066 и МЛ118, групп Д и Е со штаммом МЛ980 (Мамадышский район) – 97,2-97,5%, и 96,1 и 97,8% соответственно. Со всеми остальными сравниваемыми штаммами, идентифицированными в популяциях рыжей полёвки в ПФО и относящимися к генетической линии RUS, значения идентичности НП исследованных штаммов превышали 93,7%, что позволяет характеризовать их как принадлежащих к этой линии.

Сравнительный анализ НП участка М-сегмента показал, что не во всех случаях максимальные значения идентичности групп штаммов, выявленных у больных ГЛПС, соответствовали тем же штаммам, циркулирующим в популяциях рыжей полёвки в РТ и некоторых соседних регионах ПФО, что и для S-сегмента. Так, для групп А, В, Г, Е и Ж максимальные значения идентичности НП были выявлены при сравнении с теми же штаммами МЛ118, МЛ1152, МЛ066, МЛ980 и МЛ1131, соответственно, что и в случае S-сегмента. В то же время для групп Б и Д максимальные значения идентичности НП были получены при сравнении со штаммами МЛ845/МЛ1131 и МЛ809, соответственно, а не со штаммами МЛ066/МЛ118 и МЛ980, соответственно, как при сравнении S-сегмента. Как было показано ранее, штаммы МЛ066 и МЛ118 относятся к филогенетической субкладе I, штаммы МЛ809, МЛ845 и МЛ1131 – к субкладе II, а штамм МЛ980 – к субкладе III, распространённым на территории Предкамья РТ. Таким образом, наличие в

геноме штаммов группы Б S-сегмента, соответствующего субкладе I и M-сегмента, соответствующего субкладе II, позволяет предположить реассортантное происхождение этой группы штаммов.

В результате сравнительного анализа установлено, что аминокислотные последовательности (АП) кодируемого S-сегментом N-белка сравниваемых штаммов характеризуются значением идентичности не уровне 99,9-100%, что свидетельствует об отсутствии значащих мутаций в НП. Только у штаммов группы В в АП присутствует аминокислотная замена K242R, характерная для штаммов PUUV, циркулирующих в популяциях рыжей полёвки в районе Тетеево, а также штаммов, распространённых в Закамье РТ; а у групп Д, Е и Ж выявлена мутация V260I, как и у штаммов, относящихся к субкладам II и III и циркулирующим в Предкамье.

В то же время сравнительный анализ АП фрагмента кодируемого M-сегментом предшественника гликопротеинов выявил у штаммов PUUV из группы Б аминокислотную замену I577V, являющуюся результатом замены нуклеотида A1769G, что привело к изменению кодона АТТ→ГТТ. Такая же мутация найдена и у штаммов МЛ809, МЛ845 и МЛ1131, распространённых в Предкамье и отнесённых к субкладе II, а также у штамма МЛ794, выявленного в популяции рыжей полёвки в Верхнеуслонском районе на правом берегу реки Волга. Исходя из значений идентичности НП, представляется вероятным, что мутация A1769G у штамма МЛ794 произошла независимо от остальных штаммов, в то время для штаммов группы Б и субклады II она может рассматриваться как аргумент в пользу их близкородственности [2].

В результате сравнительного анализа в АП была выявлена также мутация V645A/M/I/L. У 13 из 18 сравниваемых штаммов PUUV из популяций рыжей полёвки в ПФО в соответствующих позициях НП (1973-1975 н.о.) находится кодон GTG, кодирующий валин, в то время как у штаммов, выявленных у больных ГЛПС, такой кодон в НП присутствует в группах В, Е и Ж, т.е. только у пяти из 16. У трёх штаммов из группы А и у штамма МЛ118 в этих позициях находится кодон GCG, что привело к аминокислотной замене V645A, а у четвёртого штамма из этой группы (МЛ449) – кодон АТГ, кодирующий метионин. У штаммов из группы Г в этих позициях выявлен кодон АТА, кодирующий изолейцин, а у штамма из группы Д – кодон ТТГ, кодирующий лейцин. Таким образом, позиция 645 в АП предшественника гликопротеинов характеризуется повышенной вариабельностью [3]. Разные аминокислотные замены в этой позиции могут свидетельствовать как о меньшем давлении отбора и незначительном влиянии аминокислотных замен на свойства гликопротеина Gp, так и о существовании ряда вариантов гликопротеина, различающихся по способности взаимодействия с поверхностью инфицируемых клеток [4]. Однако имеющихся данных недостаточно для однозначного вывода.

Филогенетические деревья, построенные для участков S- и M-сегментов в целом характеризуются сходной топологией. Так, на обоих деревьях штаммы из группы А располагаются на одной ветке со штаммом МЛ118, штаммы из группы В – на одной ветке

с МЛ1152, штаммы из группы Г – на одной ветке с МЛ066, штамм из группы Е – на одной ветке с МЛ980, штамм из группы Ж – на одной ветке с МЛ1131, штамм из группы Д – на отдельной ветке, расположенной рядом с веткой выявленного ещё в 80-х годах 20-го века на территории РТ штамма Kazan. Расположение штаммов на одинаковых ветках деревьев позволяет сделать вывод об их близком филогенетическом родстве. Это, в свою очередь, даёт основания для предположения о высокой вероятности совпадения районов циркуляции штаммов PUUV на территории РТ и мест инфицирования конкретных пациентов. Иными словами, пациенты, инфицированные штаммами группы Г, с высокой вероятностью заразились поблизости от п.Высокой Горы Высокогорского района; пациенты, у которых выявлены штаммы группы А, по всей видимости, были инфицированы в лесных массивах поблизости от Обсерватории им. Энгельгардта, в Зеленодольском районе; больные со штаммами группы В, скорее всего, были заражены в лесу между г. Казань и с.Тетеево Лаишевского района; пациент со штаммом группы Е, был инфицирован в Мамадышском районе, неподалёку от г.Мамадыш, а пациент со штаммом группы Ж – поблизости от с. Пестрецы Пестречинского района.

Для штамма группы Д близкие филогенетические связи со штаммами PUUV, циркулирующими в РТ, выявить не удалось: согласно дереву для S-сегмента, он расположен на соседней ветке со штаммом МЛ980 (субклада III, Мамадышский район), а на дереве для М-сегмента его ветка находится по соседству со штаммами из Пестречинского и Лаишевского районов (субклада II). Таким образом, невозможно определить вероятный район инфицирования пациента. Возможно, что район циркуляции этого и близкородственных штаммов в популяциях рыжей полёвки находится между с.Пестрецы и г.Мамадыш, однако для проверки этого предположения необходимы дальнейшие исследования.

Наиболее существенно построенные деревья различаются по расположению штаммов группы Б. На дереве S-сегмента эта группа находится на ветке, соседней по отношению к штаммам МЛ118 и группе А, и может быть вместе с ними отнесена к субкладу I, в то время как на дереве М-сегмента группа Б расположена на соседней ветке относительно штаммов МЛ809, МЛ845 и МЛ1131, входящих в субкладу II. Такое различие в топологии филогенетических деревьев позволяет предположить, что S- и М-сегменты штаммов группы Б имеют разных предков и, следовательно, штаммы являются реассортантами. Так как реассортантных геномов PUUV такого типа в популяциях рыжей полёвки РТ на сегодняшний день не выявлено, то невозможно определить вероятный район инфицирования пациентов. Однако, исходя из значения идентичности НП, мутаций в АП и результатов филогенетического анализа, можно предположить, что район циркуляции штаммов группы Б находится между лесным массивом на западной окраине г. Казань и лесными массивами Пестречинского района, возможно, что в черте города.

Выводы. Изучение штаммов PUUV, циркулирующих в популяциях рыжей полёвки на территории природных очагов Татарстана, позволяет сделать вывод об их

близком филогенетическом родстве. Сравнительный анализ секвенированных участков генома штаммов PUUV у пациентов с диагнозом ГЛПС и штаммов, ранее выявленных в ряде популяций рыжей полёвки на территории РТ даёт основания для предположения о высокой вероятности совпадения районов циркуляции штаммов PUUV на территории РТ и мест инфицирования конкретных пациентов.

Список литературы

1. Савицкая Т.А., Иванова А.В., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Трифонов В.А., Зиатдинов В.Б.,

Серова И.В., Сафронов В.А. Оценка эпидемиологической ситуации по геморрагической лихорадке с почечным синдромом в мире и России, прогноз на 2020 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 2: 65. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-62-70.

2. Davidyuk, Y.; Shamsutdinov, A.; Kabwe, E.; Ismagilova, R.; Martynova, E.; Belyaev, A.; Shuralev, E.; Trifonov, V.; Savitskaya, T.; Isaeva, G.; Khaiboullina, S.; Rizvanov, A.; Morzunov, S. Prevalence of the *Puumala orthohantavirus* Strains in the Pre-Kama Area of the Republic of Tatarstan, Russia. *Pathogens* 2020, 9, 540. DOI:10.3390/pathogens9070540.

3. Kabwe E., Davidyuk Y., Shamsutdinov A., Isaeva G.Sh., Rizvanov A., Khaiboullina S. / Orthohantaviruses, emerging zoonotic pathogens // *Pathogens* 2020, 9(9), 775. DOI: 10.3390/pathogens9090775.

4. Chulpanova, D.S., Solovyeva, V.V., Isaeva, G.S. Rizvanov A.A. Recombinant histone H1.3 inhibits orthohantavirus infection in vitro. *BioNanoSci.* (2020). 10, 783–791. DOI: 10.1007/s12668-020-00759-5.

ИНФИЦИРОВАННОСТЬ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ХАНТАВИРУСАМИ В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН ЗА ПЕРИОД 2012-2020ГГ

*Савицкая Т.А.¹, Трифонов В.А.^{3,1}, Исаева Г.Ш.^{1,4}, Решетникова И.Д.^{1,2},
Сафиуллина Г.Ш.⁵, Гайнуллин А.А.⁵*

INFECTION OF SMALL MAMMALS WITH HANTAVIRUS IN THE REPUBLIC OF TATARSTAN FOR THE PERIOD 2012-2020

*Savitskaya T.A., Trifonov V.A., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D., Safiullina
G.Sh., Gainullin A.A.*

¹ФБУН "Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии" Роспотребнадзора, г.Казань;

² Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань;

³ КГМА – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Казань;

⁴ ФГБОУ ВО "Казанский государственный медицинский университет" Минздрава
России, Казань;

⁵ ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)",
Казань

Актуальность. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) остаётся наиболее часто встречаемым природно-очаговым заболеванием в Приволжском федеральном округе и в Республике Татарстан [1,2] Уровень заболеваемости населения находится в прямой зависимости от численности и инфицированности мышевидных грызунов хантавирусами. Заражение людей происходит в местах обитания рыжей полёвки, поэтому для принятия мер по снижению уровня заболеваемости важно знать локализацию популяций грызунов инфицированных возбудителями ГЛПС. В связи с этим изучение инфицированности мелких млекопитающих проводится ежегодно в целях прогнозирования эпидемиологической ситуации.

Материалы и методы. Лабораторные исследования биопроб легких грызунов проводились с помощью иммуноферментной тес-системы для определения антигенов хантавирусов "Хантагност", производства ФГУП "ПИПВЭ им. М.П.Чумакова (г.Москва).

В работе были использованы данные статистических отчетов, эпизоотологических исследований ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан" и ФБУН "Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии" Роспотребнадзора за период 2012-2020гг, литературные источники.

Результаты и обсуждение.

Лесом покрыто около 16% территории Республики Татарстан, располагающейся на границе двух больших зоогеографических зон – леса и степи, чем и определяется фауна мелких млекопитающих, населяющих природные ландшафты республики.

Ежегодные учетные работы проводятся в открытых луго-полевых, околородных и лесокустарниковых станциях Республики Татарстан. При этом обследуются 12-19 муниципальных районов в год.

Видовой состав носителей вируса ГЛПС в ландшафтах Татарстана состоит из рыжей полёвки, малой лесной мыши, желтогорлой мыши, бурозубки, полевой мыши и обыкновенной полёвки. Основным носителем хантавирусов в регионе является рыжая полевка (*Myodes glareolus*). Средний индекс доминирования ее составляет более 65%. Остальные виды грызунов, обитатели лесных, луговых фитоценозов и поселений человека значительно уступают рыжей полевке, как по численности, так и спонтанной зараженности вирусом ГЛПС.

За период 2012-2020гг было отловлено и исследовано на наличие возбудителей ГЛПС 3023 особи мелких млекопитающих. Из них положительный результат был получен в 304 пробах (10,0%). Проведенные дополнительные лабораторные

исследования методом ОТ-ПЦР установили, что на территории республики циркулирует вирус *Puumala* (PUUV) из рода *Orthohantavirus*.

За указанный период в республике было зарегистрировано 6583 заболевших ГЛПС, интенсивный показатель заболеваемости на 100 тыс. нас. находился в пределах от 5,3 (2013г) до 32,9 (2014г). При этом наиболее высокий уровень заболеваемости сочетался с высоким уровнем инфицированности грызунов возбудителями ГЛПС. Так, в 2015 году уровень инфицированности грызунов составил 16,6%, что в свою очередь отразилось на заболеваемости людей ГЛПС, составившей за 2015 год 28,3 на 100 тыс. населения. Аналогичная картина отмечалась и в 2016 году: при инфицированности грызунов 14,8%, заболеваемость составила 20,1 на 100 тыс. населения. Наряду с этим в отдельные годы, когда инфицированность грызунов хантавирусами была относительно не высокой, отмечался и низкий уровень заболеваемости среди людей. Так, в 2013 году инфицированность грызунов составила 6,6%, а заболеваемость людей 5,3 на 100 тыс. населения. А также в 2020 году при инфицированности грызунов 4,4%, заболеваемость составила 11,5 на 100 тыс. населения.

Выводы. Уровень заболеваемости ГЛПС населения в значительной степени зависит от численности основных резервуарных хозяев хантавирусов и их инфицированности возбудителями ГЛПС. При этом большую роль играет посещаемость населением мест обитания носителей возбудителей ГЛПС, где и происходит заражение людей.

В целях профилактики заражений населения ГЛПС и проведения своевременных мероприятий, необходимо проводить эпизоотолого-эпидемиологический мониторинг, включающий в себя оценку складывающейся эпизоотической ситуации в популяции грызунов, основных носителей вирусов ГЛПС, с проведение лабораторных исследований инфицированности грызунов.

Список литературы

1. Ткаченко Е. А. и др. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом в России – проблема XXI века. Вест. Рос. Акад. Ест. Наук. 2012. № 1. С. 48-54.
2. Савицкая Т.А., Иванова А.В., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Трифионов В.А., Зиатдинов В.Б., Серова И.В., Сафронов В.А. Оценка эпидемиологической ситуации по геморрагической лихорадке с почечным синдромом в мире и России, прогноз на 2020 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 2: 65. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-62-70.

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО БОРРЕЛИОЗУ В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН

Савицкая Т.А.¹, Трифонов В.А.^{1,2}, Тюрин Ю.А.¹, Агафонова Е.В.¹, Исаева Г.Ш.¹, Решетникова И.Д.¹

CURRENT STATE OF THE EPIDEMIOLOGICAL SITUATION FOR BORRELIOSIS IN THE REPUBLIC OF TATARSTAN

Savitskaya T.A., Trifonov V.A., Tyurin Yu.A., Agafonova E.V., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D.

¹ФБУН "Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии", г.Казань

²Казанская государственная медицинская академия - филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, г.Казань

Болезнь Лайма занимает одно из ведущих мест в Российской Федерации среди трансмиссивных инфекционных заболеваний передающихся клещами. Высокий уровень заболеваемости иксодовым клещевым боррелиозом (ИКБ) отмечается в Ленинградской, Томской, Тверской, Ярославской, Костромской, Калининградской, Пермской и Тюменской областях, а также в Уральском, Западносибирском и Дальневосточном регионах. Эпидемиологическая ситуация по боррелиозу в Российской Федерации за последние 20 лет остаётся стабильной, среднемноголетний показатель составляет 5,3 на 100 тыс. населения.

В Приволжском федеральном округе по уровню заболеваемости ИКБ занимает второе место после ГЛПС среди остальных природно-очаговых инфекций. При этом отмечается тенденция к росту заболеваемости ИКБ. Наиболее высокий уровень заболеваемости среди регионов ПФО в Кировской области, Пермском крае, Республиках Удмуртия и Марий Эл.

Годовая динамика заболеваемости ИКБ характеризуется выраженной сезонностью, связанной с периодом активности переносчиков – клещей *I.persulcatus*, *I.ricinus*, *D.reticulatus*. Заболевания людей регистрируются со 2-3 декады апреля. Максимальная заболеваемость отмечается в Европейской части страны в мае, в Предуралье, на Урале и Западной Сибири – в мае-июне, на Дальнем Востоке – в мае-июле. Таким образом, для заболеваний ИКБ характерна весенне-летняя сезонность, которая обусловлена периодом активности клещей, связанная с региональными природно-географическими, погодными условиями и видами переносчика.

В Республике Татарстан среднемноголетний показатель заболеваемости за последние 20 лет составил 1,6 на 100 тыс. населения. В 2017 году в республике было зарегистрировано 28 случаев ИКБ (0,7 на 100 тыс. населения). При мониторинге инфицированности клещей возбудителями боррелиоза за период 2012-2017гг было установлено, что из 5540 исследованных особей клещей 734 (13,2%) оказались инфицированными боррелиями. Серологический мониторинг напряженности

иммунитета к возбудителям боррелиоза свидетельствует о высоком уровне антител к боррелиозу среди лиц ранее не болевших ИКБ. Так за период 2012-2017гг было исследовано 2144 сыворотки, из них сероположительными были 106 (4,9%). Полученные данные свидетельствуют о широкой циркуляции возбудителей боррелиоза в природных очагах этой инфекции. При этом, возможно, что данные официальной статистики заболеваемости ИКБ не отражают в полной мере картину эпидемиологического процесса, протекающего на территории Республики Татарстан. В связи с этим необходимо продолжать проведение мониторинга инфицированности переносчиков и напряженности иммунитета к возбудителям ИКБ, усилить меры профилактики среди лиц посещающих природные очаги ИКБ, расположенные на территории республики.

МИКРОФЛОРА КОЖИ У БОЛЬНЫХ С ГАСТРОПАТОЛОГИЕЙ

С.В. Соковнина

SKIN MICROFLORA IN PATIENTS WITH GASTROPATHOLOGY

S.V. Sokovnina

ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» МЗ РФ

Многие пациенты, обращающиеся к дерматологу, имеют те или иные жалобы со стороны ЖКТ. При этом пациенты акцентированы на кожной патологии и, следовательно, связанным с нею психологическим и физическим дискомфорте. Это, в свою очередь, сопровождается хроническим стрессом и проблемами социальной адаптации. Нарушения микробного пейзажа у больных с гастропатологией отмечается часто. В большинстве случаев это сочетание дисбиоза кишечника и дерматозов. Авторы некоторых работ считают, что дисбиоз кишечника предопределяет торпидное течение дерматозов, резистентность к традиционным методам лечения, тенденцию к хронизации и частым рецидивам. Зеркальным отражением различных патологических процессов, протекающих в организме человека, прежде всего в системе органов пищеварения, является кожа. Это связано с тем, что кожные покровы и органы пищеварения находятся в тесной взаимосвязи. У них единство происхождения в эмбриогенезе, общности барьерных функций и взаимодействие с микробиотой. Поэтому проблемы кожных проявлений при гастропатологии встречаются часто. Но микробиом кожи у больных с заболеваниями пищеварительного тракта практически не изучен. Что и послужило целью нашего исследования.

Цель исследования. Оценка микробиоценоза кожи у больных с гастропатологией.

Материалы и методы. Путем анкетирования среди студентов 2 курса были отобраны две группы по 20 человек. Первую группу составляли студенты с

заболеваниями пищеварительного тракта, вторую - контрольную группу, студенты без заболеваний ЖКТ. Среди группы с заболеваниями, в диагнозе доминировал гастродуоденит, имеющийся у 12 человек (60%), по три человека с гастритом (15%) и язвенной болезнью желудка (15%), и два с синдромом Жельбера (10%).

Использовали бактериологический метод исследования, проводившийся на базе бактериологической лаборатории БУЗ УР «1 РКБ МЗ УР». Материалом являлся смыв с рук, который забирали тампонами смоченными стерильным физиологическим раствором с межпальцевых промежутков, как наиболее контаминированных. Тампон помещали в сахарный бульон для накопления. Культивировали сутки в термостате, а в последующем пересекали на среды Эндо (определение кишечной группы бактерий), ЖСА (для обнаружения и дифференциации стафилококков), КА (для определения гемолитической активности бактерий) и среду Сабуро (для выделения грибковой флоры). Питательные среды инкубировали в термостате 24-48 часов.

Результаты исследований показали, что в группе с гастропатологией у всех и, в большом количестве, на кожных покровах присутствовали бактерии. В контрольной группе высеваемость была значительно меньше. Так частота колонизации кожи кишечной палочкой в группе с ЖКТ составила 100%, в контрольной – 37%. Число колоний на среде Эндо в основной группе было значительным – 10 -20 КОЕ в образце, тогда, как у контрольных – единичные колонии – 2-3 КОЕ. Высеваемость стафилококков на ЖСА у студентов с гастропатологией тоже составляла 100%. Из них у 75% был эпидермальный стафилококк, у 25% - золотистый стафилококк. В группе здоровых студентов золотистые стафилококки отсутствовали, а доля эпидермальных стафилококков составляла 62%. Частота встречаемости грибов Кандида на среде Сабуро у группы с заболеваниями ЖКТ соответствовала 50%, тогда, как в контрольной группе только 5%. Бактерии, обладающие гемолитической активностью на КА присутствовали у 62% исследуемых основной группы. В посевах контрольной группы гемолитическая активность отсутствовала. Анализируя микрофлору кожи с группе с гастропатологией, было обнаружено, что в 100% бактерии вегетируют в виде ассоциаций: 87% - кишечная палочка и стафилококки; 50% - кишечная палочка, стафилококки и Кандида.

Вывод. Таким образом, проведенные исследования показали, что кожа при гастропатологии сопровождается интенсивным заселением условно-патогенной и патогенной флорой. Если учесть, что руки – это область наиболее интенсивного обмена микрофлорой, то результаты исследования приобретают практическое значение и являются доводом в пользу выбора этого участка в качестве объекта диагностического и прогностического наблюдения.

ИЗУЧЕНИЕ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ К ЭКЗОТОКСИНУ *SSL7* *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* У ПАЦИЕНТОВ С АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ

Тюрин Ю.А.^{1,2}, Утяганова Ю. О.¹, Исаева Г.Ш.^{1,2}

STUDY OF SENSITIZATION TO EXOTOXIN SSL7 STAPHYLOCOCCUS AUREUS IN PATIENTS WITH ATOPIC DERMATITIS

Tyurin Yu.A. 1,2, Utyaganova Yu.O.1, Isaeva G.Sh.1,2

¹ФБУН Казанский НИИЭМ, Роспотребнадзора, Россия

²ФГБОУ ВО Казанский ГМУ, Министерства здравоохранения России

Актуальность. Многочисленные эпидемиологические исследования, изучающие распространение аллергических заболеваний в России и за рубежом, объективно отражают неуклонный рост аллергической патологии, особенно у детского населения [1, 6]. Особенно высокая распространённость атопического дерматита приходится на детскую популяцию. У детей, заболевание часто сопровождается бактерионосительством *S. aureus*. Важной особенностью штаммов *S. aureus* – является способность вызывать обострение заболевания, что способствует распространению воспалительной реакции и усугублению структурно-морфологических изменений в органах мишенях, в частности, в коже [2, 8].

При атопическом дерматите при длительном течении заболевания отмечается расширение спектра сенсибилизирующих аллергенов, в том числе и включение в процесс сенсибилизации стафилококковых экзотоксинов и ферментов, что осложняет выбор лечебно-диагностической тактики ведения пациентов [5]. В данной работе изучена способность экзотоксинов SSL (*staphylococcal superantigen-like*) группы *S. aureus* участвовать в сенсибилизации пациентов с различными формами атопического дерматита.

Цель: изучить профиль IgE антител к иммунным эпитопам молекулы экзотоксина (SSL7), относящегося к группе суперантигеноподобных токсинов *S. aureus*, у бактерионосителей с атопическим дерматитом.

Материалы и методы. В работе были применены микробиологические, аллергологические, биоинформационные, молекулярно-генетические и серологические методы исследования. В исследуемую группу были включены 60 пациентов с диагнозом атопический дерматит (АтД) средней степени тяжести с ограниченной. Определение генетического профиля *S. aureus* осуществляли методом М-ПЦР. Детектировали присутствие в геноме штаммов *S. aureus* генов экзотоксинов (SSL-белков), относящихся к кластеру генома размером 12-17 kb и формирующим «остров патогенности» подобный SaPI_{n2} [4]. Для установления молекулярной структуры эпитопов молекулы мишени -

экзотоксина SSL7 и первичной структуры подобных экзотоксинов у бактерий этого вида применяли биоинформационные методы анализа с ресурсных сайтов NCBI, IADB, UniProt. В работе использовали синтетические пептиды с 95% частой (GenScript, США) и реагенты для иммуноферментного анализа.

Результаты.

У пациентов с АД в 46,0 -75,0% случаев были выделены с участков поражённой кожи изоляты *S. aureus*. По результатам М-ПЦР типирования определены генетические профили генов экзотоксинов SSL группы в 60 выбранных изолятах *S. aureus*, колонизирующих кожу пациентов с АД различной формой тяжести заболевания, определяемой по шкале SCORAD. С помощью ресурса IADB Analysis Resource были спрогнозированы два консервативных иммунных В-эпитопов этого экзотоксина: ITSEGQAVHARTRQE и GGVTKKNNKSSET.

Методом иммуноферментного анализа в сыворотке крови пациентов с atopическим дерматитом были выявлены эпитоп-связывающиеся IgE и IgG4 антитела в диагностически значимых титрах, достоверно отличающиеся от уровня этих антител в сыворотке крови группы контроля (здоровых доноров). Необходимо учитывать, что экзотоксины SSL *S. aureus* наряду с участием в сенсibilизации пациентов с atopическим дерматитом, могут оказывать дополнительное непосредственное влияние на состояние местных и системных факторов иммунной системы ребёнка с atopическим дерматитом. Экзотоксины SSL группы, в отличие от энтеротоксинов, способны взаимодействовать, как с компонентами врожденного, так и адаптивного иммунного ответа, такими как, белки системы комплемента человека (СКЧ), Fc-рецепторами нейтрофилов, иммуноглобулинами, образуя с ними прочные комплексы [7]. В частности, показана, способность SSL7 экзотоксина *S. aureus*, как мультисайтового бактериального белка, связывать C5 компонент СКЧ и IgA, тем самым ингибирует СКЧ-обусловленный гемолиз и бактерицидную активность важнейшего иммуноглобулина человека [3].

Таким образом, у пациентов с АД при выявлении бактерионосительства золотистого стафилококка возможно формирование сенсibilизации к экзотоксинам SSL *S. aureus*, что необходимо принимать во внимание при лечении пациентов с данным заболеванием, а также при создании персонализированных алгоритмов диагностики у пациентов с этой патологией. Кроме этого необходимо оптимизировать микробиологическую диагностику у пациентов с atopическим дерматитом, направленную на определение вирулентного «генетического профиля» штаммов *S. aureus*, выделяемых с кожи и слизистых этих больных.

Список литературы:

1. Богова, А. В. Тенденции в изучении эпидемиологии аллергических заболеваний в России за последние 10 лет / А. В. Богова, Н. И. Ильина, Л. В. Лусс // Российский аллергологический журнал. – 2008. – № 4. – С. 3-15
2. Воронина, В. Р. Особенности микробиоценоза кожи больных atopическим дерматитом и терапия его осложнений / В. Р. Воронина, А. Н. Пампура, Е. С. Феденко

//Российский аллергологический журнал. – 2007. №4(3). – С. 3-11.

3. Лахтин, М. В. Кофункционирование защитных систем: мукозальный иммунитет и система комплемента человека / М. В. Лахтин, В. М. Лахтин, С. С. Афанасьев, В. А. Алешкин //Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal). – 2015. – №5. – С.113-122.

4. Arcus, V. L. The three-dimensional structure of a superantigen-like protein, SET3, from a pathogenicity island of the *Staphylococcus aureus* genome / V. L. Arcus, R.Langley, T.Proft, J. D.Fraser, E. N. Baker //J Biol Chem. – 2002. –vol. 277. – P. 32274-3228

5. Argemi, X., Hansmann Y., Prola K., Prévost G. Coagulase-negative *Staphylococci* pathogenomics / X. Argemi, Y. Hansmann, K. Prola, G. Prévost //Int J Mol Sci. – 2019. –vol. 11. no 20(5). – P. 1215

6. Genuneit, J. Overview of systematic reviews in allergy epidemiology/ J.Genuneit, A. M.Seibold, C. J. Apfelbacher, G. N. Konstantinou, J. J. Koplin, S. La Grutta, K. Logan, M. R. Perkin, C. Flohr; Task Force ‘Overview of Systematic Reviews in Allergy Epidemiology (OSRAE)’ of the EAACI Interest Group on Epidemiology //Allergy. – 2017. – vol.72. – P. 849-856.

7. Hermans, S. J. Structural and functional properties of staphylococcal superantigen-like protein 4/ S. J. Hermans, H. M. Baker, R. P. Sequeira, R. J. Langley, E. N. Baker, J. D. Fraser //Infect Immun. – 2012. –vol.80. – P. 4004-4013

8. Lyons, J. J. Atopic dermatitis in children: clinical features, pathophysiology, and treatment / J. J. Lyons, J. D. Milner, K. D. Stone // Immunol Allergy Clin North Am. – 2015. – vol.35 (1). – P.161-183

**МЕТОДИКА ОТБОРА ШТАММОВ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ЛИПОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ *STAPHYLOCOCCUS SPP.*,
ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ СОСТАВА МИКРОБИОТЫ КОЖИ И СЛИЗИСТОЙ
ОБОЛОЧКИ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ ПРИ
АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ**

Тюрин Ю.А.^{1,2}, Исаева Г.Ш.^{1,2}

**METHOD FOR SELECTING STRAINS AND DETERMINING
LIPOLYTIC ACTIVITY OF STAPHYLOCOCCUS SPP. ISOLATED
FROM THE COMPOSITION OF SKIN MICROBIOTA AND MUCOSA
OF THE UPPER RESPIRATORY TRACT IN ALLERGIC DISEASES**

Tyurin Yu.A.^{1,2}, Isaeva G.Sh.^{1,2}

¹ФБУН Казанский НИИЭМ, Роспотребнадзора, Россия

²ФГБОУ ВО Казанский ГМУ, Министерства здравоохранения России

Актуальность. Бактериальные липазы, в том числе стафилококковые, могут выступать значимыми факторами патогенности, в частности, с этими ферментами связана способность стафилококков ингибировать процессы фагоцитоза, что указывает на прямое участие стафилококковых липаз в патогенезе стафилококковых инфекций, и ассоциированных воспалительных процессов, связанных с бактериями этой таксономической группы [1]. Кроме того, ряд видов *Staphylococcus spp.* способны к продукции внеклеточного фермента (FAME), который может действовать в синергизме с липазой в инактивации токсичных жирных кислот, моно- и диацилглицеринов [2]. Биохимические свойства стафилококковых липаз несколько различаются. Липазы, выделенные из *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus aureus*, характеризуются высокой липолитической активностью при pH 6,0, а ферменты *S. warneri*, *S. haemolyticus*, *S. hyicus* оптимально активны при pH 8,0-8,5 [3,4]. В связи с этим возникает потребность в расширении возможностей тестирования клинических изолятов, выделенных штаммов стафилококков на липолитическую активность и подбор оптимальных методических приемов для его осуществления в практической работе микробиологической лаборатории.

Материалы и методы. Представлена подробная методика отбора липолитически активных штаммов *Staphylococcus spp.* и методика определения удельной липолитической активности культуральной жидкости (КЖ), получаемой после культивирования тестируемых бактериальных штаммов.

На первом этапе определяли наличие или отсутствие липолитической активности у тестируемых штаммов *Staphylococcus spp.* на мясопептонной агаровой среде, содержащей триолеилглицерина оливкового масла и красителя родамин Б (rhodamine B) по методу, первоначально предложенному в работе Kouker G., и др. 1987, в последующей модификации Fendri I, и др., 2010 г. [5,6].

Гидролиз бактериальной липазой триолеилглицерина оливкового масла на твердой агаровой среде вызывает образование оранжевых флуоресцентных ореолов вокруг бактериальных колоний, которые характеризуются ярким оранжевым свечением при воздействии УФ-облучения. Для визуализации свечения колоний и фотофиксации изображений в нашем исследовании использовали гель-документирующую систему Gel Doc XR+ System (Bio-Rad, США) и специальные фильтры.

На втором этапе тестируемые штаммы с выявленной липолитической активностью на агаровой среде с родамином Б, засеивали в жидкую питательную среду для получения КЖ и определения количественного значения удельной липазной активности штаммов по модифицированному нами методу предложенному в работе Sakinc T., и др., 2007 [7].

Определения липазной активности проводили в жидкой питательной среде в следующей модифицированной методике. В колбы объемом 100 мл с жидкой питательной средой засеивали взвесью тестируемой культуры *Staphylococcus spp.* в объеме 1,0 мл (мутность инокулюма по МакФарланду составляла 1,0 ЕД) и инкубировали в

течении 24 часов на качалке при 37 С. Через сутки отбирали культуральную жидкость (КЖ), центрифугировали при 4000 g 30 минут при 4°С с последующей фильтрацией через фильтры MF-Millipore™ Membrane Filter (Merck, Германия) 0,22 μm (D=0,22 мкм), полученный супернатант использовали для тестирования липазной активности. По составу жидкая питательная среда для определения липазной активности, состояла из пептона, хлорид натрия, дрожжевого экстракта, КН₂РO₄, хлорид кальция, твин-80 и оливкового масла.

Липазную активность определяли при рН=6,0 и рН=8,0 с применением субстрата *n*-нитрофенилкаприловой кислоты (Fluka, Германия) или *p*-нитрофелипальмитиновой кислоты (Sigma-Aldrich, США) в концентрации 5 ммоль/л при Т=30° С. Активность измеряли спектрофотометрическим способом при 405 нм. Для этих целей использовали буферный раствор А: рН 6,0, содержащий 10 мМ MES (Helicon, Россия), 10 мМ сукцината натрия, 10 мМ ХЕПЕС (helicon, Россия), 10 мМ Трис-НСl и 10 мМ СаСl₂, 100 мМ Тритон Х-100. Буферный раствор Б: рН 8,0, содержащий 10 мМ Трис-ОН, 10 мМ НСl, 10 мМ СаСl₂, 5 мМ ХЕПЕС и 100мМ Тритон-Х 100. При определении удельной липазной активности применяли методику определения липазной активности КЖ в собственной модификации. Для этого готовили опытные и контрольные пробы. Для постановки опытной пробы к реакционной смеси состоящей из 400 мкл буферного раствора А (рН=6,0) с субстратом (*n*-нитрофенилкаприловой кислоты или *p*-нитрофелипальмитиновой кислоты) с концентрацией 5 ммоль/л вносили 100 мкл супернатанта КЖ и инкубировали при температуре 30° С в течении 30 минут. При определении липазной активности при рН = 6,0 после истечения 30 минутной инкубации в реакционную смесь вносили 50,0 мкл 0,1н раствора гидроксида натрия (для развития желтой окраски) и измеряли ОП при 405 нм.

При определении липазной активности при рН=8.0 для постановки опытной пробы к реакционной смеси состоящей из 400 мкл буферного раствора Б с субстратом (*p*-нитрофенилкаприловой кислоты или *p*-нитрофелипальмитиновой кислоты) с концентрацией 5 ммоль/л вносили 100 мкл супернатанта КЖ и инкубировали при температуре 30° С в течении 30 минут. Измерение оптической плотности проводили сразу через 30 минут инкубации. Измерение проводили также при 405 нм. Для постановки контрольной пробы использовали 400 мкл буферного раствора с субстратом, 100,0 мкл стерильной жидкой среды для определения липазной активности и 50,0 мкл 0,1 н раствора гидроксида натрия. Расчёт липазной активности (А) КЖ осуществляли по формуле (1):

$$A=V1 \times k \times (D405_{оп} \times D405_{контроль}) / V2 \times K \times 1 \times t \quad (1)$$

где, V1 – конечный объем пробы реакционной смеси, в мл

k – коэффициент пересчета моль в мкмоль - 10⁶

V2 – объем КЖ тестируемого на липазную активность, в мл

K – коэффициент молярной экстинкции *p*-нитрофенола, в л×см-1×моль-1 равный 18,3×10³

D405оп – оптическая плотность (экстинкция) опытной пробы при 405 нм

D405контроль – оптическая плотность (экстинкция) контрольной пробы при 405 нм.

l – оптический путь или ширина кюветы, в см.

t – время инкубации пробы, в мин

За 1 единицу (1 U или 1 Ед.А) липазной активности КЖ принимали такое количество фермента, которое катализирует высвобождение 1 мкмоль *n*-нитрофенола при гидролизе *p*-нитрофенилкаприловой кислоты или *n*-нитрофелипальмитиновой кислоты за 1 минуту на литр. Удельную липазную активность КЖ рассчитывали, как отношение 1 ЕД липазной активности к 1 мг белка КЖ (Ед. А ×мг⁻¹ или U×мг⁻¹). Все пробы анализировали в трёх повторах.

Результаты. При тестировании штаммов *S. aureus*, выделенных с поражённой кожи детей с атопическим дерматитом (младенческая форма) у 87,2±2,6% изолятов выявлена липолитическая активность на соответствующей индикаторной среде с родамином Б. Также было установлено, что с возрастом, частота выделения липолитически активных штаммов *S. aureus*, с поражённой патологическим процессом кожи, снижается. Встречаемость липолитически активных штаммов *S. aureus* у детей с АтД в возрасте от 4-х до 10 лет составила 55,0±3,6%, у подростков – 38,0±1,6%, а у взрослых пациентов - 31,0±0,9%. При АтД в группе подростков 13-18 лет также отмечено преимущественное выделение липолитически активных штаммов *S. epidermidis* (59,0±3,6%). Частота встречаемости липолитически активных изолятов среди *S. epidermidis*, выделенных от пациентов с АтД, составила у детей до 3-х лет 37,8±4,6%, а у взрослых - 32,0±1,6%.

У здоровых детей бактерионосителей стафилококков в возрасте от 1 года до 3-х лет частота выделения с кожи липолитически активных изолятов *S. aureus* и *S. epidermidis* была меньше, чем у больных АтД. У детей в возрасте 4-10 лет она составила 37,0±4,6%, а у здоровых подростков частота выделения липолитически активных штаммов составила 23,7±3,6%, что почти в 2 раза меньше, по сравнению с больными АтД подростками. Для здоровых бактерионосителей контрольной группы было характерно увеличение частоты выделения липолитически активных штаммов *S. epidermidis* в детском и подростковом возрасте (от 42,8±2,6% до 49,6±4,6%).

Частота выявления липолитической активности у штаммов *S. haemolyticus*, выделенных с кожи здоровых лиц, увеличивалась с возрастом, и максимально достигала частоты 36,0±2,5% у подростков в возрасте 14-16 лет.

При изучении удельной липолитической активности изолятов *S. haemolyticus*, выделенных с верхних дыхательных путей от пациентов с аллергическими ринитами и здоровых бактерионосителей, установлена максимальная липолитическая активность (3,5 Ед. ак. мг⁻¹) у изолятов этого вида, выделенных от бактерионосителей с персистирующими аллергическими ринитами (в 2,0-2,3 раза выше, чем у изолятов, выделенных от здоровых лиц контрольной группы).

Литература.

1. Lowe, A. M. Identification of novel staphylococcal virulence genes by in vivo expression technology /A. M. Lowe, D. T. Beattie, R. L. Deresiewicz //Mol Microbiol. – 1998. – vol.27(5). – P. 967-976.
2. Kapral, F. A. The esterification of fatty acids by *Staphylococcus aureus* fatty acid modifying enzyme (FAME) and its inhibition by glycerides /F. A. Kapral, S. Smith, D. Lal //J Med Microbiol. – 1992. – vol. 37. – P. 235-237.
3. Simons, J.W. F. A. Cloning, purification and characterisation of the lipase from *Staphylococcus epidermidis*. Comparison of the substrate selectivity with those of other microbial lipases /J. W. F. A. Simons, M. D. Van Kampen, S. Riel, F. Götz, M. R. Egmond, H. M. Verheij //Eur J Biochem. – 1998. – vol. 253. – P. 675-683.
4. Oh, B. *Staphylococcus haemolyticus* lipase: biochemical properties, substrate specificity and gene cloning /B. Oh, H. Kim, J. Lee, S. Kang, T. Oh //FEMS Microbiol Lett. – 1999. – vol.179. –P. 385–392
5. Fendri, I. Isolation, identification and characterization of a new lipolytic *Pseudomonas* sp., from Tunisian soil / I. Fendri, A. Chaari, A. Dhouib, B. Jlassi, F. Carriere, S. Sayadi, S. Abdelkafi // Environ Technol. – 2010. – vol. 31. – P. 87- 95.
6. Kouker, G. Specific and sensitive plate assay for bacterial lipases / G. Kouker, K. E. Jaeger // Appl Environ Microbiol. – 1987. – vol. 53 (1). – P. 211-213.
7. Sakinc, T. Biochemical characterization of the surface-associated lipase of *Staphylococcus saprophyticus* / T. Sakinc, B. Kleine, S. G. Gatermann // FEMS Microbiol et. – 2007. – vol.274. – P.335-341.

ПАРЕНТЕРАЛЬНЫЕ ГЕПАТИТЫ В, С И АВАРИЙНЫЕ СИТУАЦИИ

Фазылов В.Х.¹, Еремеева Ж.Г.^{1,2}

PARENTERAL HEPATITIS B, C AND EMERGENCY SITUATIONS

Fazylov V.Kh., Ereemeeva Zh.G.

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

²Государственное автономное учреждение здравоохранения «Республиканский клинический кожно-венерологический диспансер Министерства здравоохранения Республики Татарстан имени профессора А.Г. Ге»; Казань

Гемоконтактные инфекции остаются одной из ведущих проблем современного здравоохранения. Парентеральные вирусные гепатиты В и С (ГВ и ГС) являются одними

из самых распространенных и опасных вирусных инфекционных заболеваний человека, что обусловлено высокой устойчивостью возбудителей во внешней среде и широким спектром клинико-эпидемиологических особенностей. Истинная распространенность вирусных гепатитов значительно превышает регистрируемую заболеваемость.

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в мире 257 миллионов человек имеют в анамнезе хронический гепатит В и еще 71 миллион проживает с хронической инфекцией гепатита С. Гепатиты имеют серьезные исходы в виде цирроза и/или рака печени.

Вследствие разнообразия механизмов и путей передачи вирусов ГВ и ГС, инфицирование возможно среди медицинских работников на рабочем месте при нарушении противоэпидемического режима, включая несоблюдение правил асептики/антисептики, а именно: при проколах перчаток, порезах кожи во время лечебно-диагностических процедур, либо при попадании зараженного биологического материала (кровь, пот, моча и т. п.) на слизистые оболочки или неповрежденную кожу.

Вирусный ГВ может быть отнесен к основным профессиональным заболеваниям медицинского персонала, что связано с относительной «легкостью» заражения. Характерными свойствами вирусного ГВ являются его чрезвычайно высокие инфекционность и устойчивость к действию факторов окружающей среды. Инфицирующая доза составляет всего 0,0000001 мл сыворотки, содержащей вирус [1]. Инфекция может переходить в хроническую форму с высоким риском летального исхода от цирроза и/или рака печени.

В России ежегодно регистрируют до 50 случаев профессиональных заболеваний вирусными ГВ и ГС. По данным ВОЗ, ежедневно в мире от вирусного ГВ погибает один медицинский работник [2].

Цель исследования: эпидемиологическая характеристика аварийных ситуаций в Республике Татарстан.

Результаты исследования. В 2019 году в Республике Татарстан обеспеченность населения врачами составила 31,8%, а средним медицинским персоналом 86,6% на 10 тысяч населения, что на 7,8% и 10,8% меньше 2010 года (в 2010 году обеспеченность врачами составила 39,6%, средний медицинский персонал 97,4% на 10 тысяч населения) [3]. Перераспределение нагрузки между имеющимся персоналом, усталость в результате большой оперативной активности, работа в ночное время, отсутствие обязательных перерывов на прием пищи и отдых, большие эмоциональные перегрузки ведут к повышенному травматизму и значительному росту случаев инфицирования [4,5].

Исследования, проведенные в различных регионах России, показали, что уровень заболеваемости гепатитами среди медицинского персонала в среднем в 2 – 3 раза выше, чем среди населения страны в целом [5,6]. Среди медицинских работников Татарстана показатели заболеваемости ХГВ в 2010 – 2017 годы составили 2,4 – 2,2 случая на 1000 медицинских работников, а ХГС 2,2 – 4,1 соответственно.

На основании мониторинга регистрации по официальным данным аварийных ситуаций, связанных с риском заражения, во время оказания медицинской помощи, установлено, что больший процент приходится на медицинские аварийные ситуации: с

2010 по 2019 гг. их роль в структуре общих выросла в 2,4 раза: с 36,5% в 2010 г. до 88,4% в 2019 г.

По результатам анализа причин аварийных ситуаций в Республике Татарстан преобладающей на протяжении 10 лет остаются проколы иглой: в 2010 г. – 76,6% и в 2019 г. – 80%. Увеличилась доля попадания крови и других биологических жидкостей на слизистую оболочку глаза (с 4,4% в 2010 г. до 8,6% в 2019 г.), порезов иглой (с 6,6% до 7,3% соответственно). Снизилась доля случаев попадания крови и других биологических жидкостей на кожу (в 2010 г. – 12,4%, в 2019 г. – 9,6%).

В структуре медицинских работников, пострадавших в медицинских аварийных ситуациях, 54,2% приходится на средний медицинский персонал, 37,1% – на врачей, 8,7% – на младший медицинский персонал. Низкий процент поражения младшего медицинского персонала можно объяснить их малой численностью, а также тем, что согласно Письму Минздрава России от 07.02.2018 N 16 – 3/10/2 – 705 «О переводе младшего медицинского персонала в уборщики служебных помещений» их должность «санитарка» переведена в «уборщик служебных помещений», что не относится к категории «младший медицинский персонал».

Медицинские работники остаются группой высокого риска по инфицированию вирусом гепатита В, несмотря на то, что гепатит В является вакциноуправляемой инфекцией. Результаты многочисленных исследований по изучению напряженности поствакцинального иммунитета показывают, что титры антител снижаются по мере увеличения давности вакцинации, а часть обследованных не имеет протективного уровня антител [7,8], что требует принятия решения о проведении ревакцинации. В соответствии с СанПин 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», вступающим в силу с 01.09.2021, ежегодному обследованию с определением концентрации анти-НВs подлежат все медицинские работники, а ревакцинации одной дозой вакцины против ГВ подлежат лица, у которых титр менее 10 МЕ/л.

Выводы.

1. Среди медицинских работников показатель заболеваемости ХГВ в 2010 – 2017 годы составил 2,4 – 2,2 случаев на 1000 медицинских работников, а ХГС 2,2 – 4,1 соответственно.

2. В 2019 г. отмечается увеличение доли медицинских аварийных ситуаций в структуре общих в 2,4 раза по сравнению с 2010 г.

3. Преобладающей причиной медицинских аварийных ситуаций остаются проколы иглой: в 2010 г. – 76,6%, в 2019 г. – 80%.

4. За 2010 – 2019 гг. среди медицинских работников, участвующих в аварийных ситуациях, большая доля приходится на средний медицинский персонал (54,2%).

5. С 01 сентября 2021 года ежегодному обследованию с определением концентрации анти-НВs подлежат все медицинские работники с последующей ревакцинацией одной дозой вакцины против гепатита В лиц с титром менее 10 МЕ/л.

Список литературы:

1. Эпидемиологический надзор за гепатитом В: Методические указания. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011. – 47 с.
2. Всемирная организация здравоохранения. Вопросы Здравоохранения. Гепатит [Электронный ресурс]. – Режим доступа: URL: <https://www.who.int/topics/hepatitis/ru/> (дата обращения 03.05.2021)
3. Здравоохранение в России. 2019: Стат. сб. / Росстат. – М., 2019. – 170 с.
4. Гаврилова Р.В. Профессиональное заражение медицинских работников вирусными гепатитами: проблемы диагностики. Медиаль. – 2016. – № 1 (18), апрель. – С. 30.
5. Вирусные гепатиты в Российской Федерации. Аналитический обзор. 11 выпуск /Под ред. В.И. Покровского, А.А. Тотоляна. – СПб.: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2018. – 112 с.
6. Шайхразиева Н. Д., Курбангалиева А. М., Лопушов Д. В., Нестерова Д. Ф. Эпидемиологическая безопасность медицинских работников в многопрофильном стационаре. Журнал «Медицинский альманах». – 2016. – № 3 (43), сентябрь. – С. 79 – 80.
7. Тураев Р.Г., Еремеева Ж.Г., Ильина Н.В., Хакимова Р.И., Мулюкова А.Н., Фазылов В.Х., Искандаров И.Р. [Оценка поствакцинального иммунитета к гепатиту в у работников республиканского центра крови Трансфузиология](#). – 2019. – Т. 20, № 4. – С. 336-345.
8. Терешков Д.В., Мицура В.М., Воропаев Е.В., Осипкина О.В., Голубых Н.М. [Оценка иммунитета против вируса гепатита в среди медицинских работников и студентов медицинского университета. Клиническая инфектология и паразитология](#). – 2019. – Т. 8, № 3. – С. 373-379.

КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВТОРИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ В УСЛОВИЯХ ПРОФИЛЬНОЙ ГОСПИТАЛИЗАЦИИ

Фазылов В.Х.^{1,2}, Манапова Э.Р.¹, Бешимов А.Т.², Акифьев В.О.²

CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL ANALYSIS OF SECONDARY DISEASES IN HIV-INFECTED PATIENTS IN THE CONTEXT OF SPECIALIZED HOSPITALIZATION

Fazylov V.Kh., Manapova E.R., Beshimov A.T., Akifiev V.O.

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства образования Российской Федерации, г. Казань, Российская Федерация

²Государственное автономное учреждение здравоохранения «Республиканский Центр по профилактике и борьбе по СПИД и инфекционными заболеваниями Министерства здравоохранения Республики Татарстан», г. Казань, Российская Федерация

Цель исследования - сравнительный клинико-эпидемиологический анализ вторичных заболеваний при ВИЧ-инфекции в различные годы стационарной помощи.

Материалы и методы

Проведен анализ 60 историй болезни пациентов с диагнозом ВИЧ-инфекция, поступивших в 2011 и 2017 годах в боксированное отделение №1 Государственного автономного учреждения здравоохранения "Республиканская клиническая инфекционная больница имени профессора А.Ф. Агафонова", город Казань.

Вторичные заболевания и сопутствующая патология устанавливались на основании эпидемиологических, клинико-лабораторных и инструментальных данных.

Градация уровней вирусной нагрузки РНК ВИЧ была представлена следующим образом: высокая ВН – более 100 000 коп/мл, средняя - от 10 000 до 100 000 коп/мл, низкая – менее 10 000 коп/мл. Аналогичным образом представлено разделение уровней CD4+лимфоцитов в соответствии с классификацией иммунных нарушений Всемирной организации здравоохранения (2008 год): высокий – более 500 кл/мкл, средний – от 200 до 500 кл/мкл, низкий – менее 200 кл/мкл.

Статистическая обработка данных осуществлялась посредством программ MS Excel 7.0, STATISTICA 10.0. Для проверки статистических гипотез о различиях относительных и абсолютных частот применялся критерий хи-квадрат, сравнение малых чисел проводился с помощью точного критерия Фишера. Количественные показатели представлены в виде медиан (Me) с указанием 25-го и 75-го квартилей [Q1; Q3]. Нормальность распределения признака в вариационном ряду выявлялась с использованием критерия Шапиро-Уилка. Гипотеза о равенстве генеральных средних в сравниваемых выборках, не подчиняющихся закону нормального распределения, проверялась с использованием непараметрического критерия Вилкоксона–Манна–Уитни. При нормальном распределении признака для сравнения показателей применяли t-критерий Стьюдента. Отклонение нулевой гипотезы происходило при пороговом уровне статистической значимости $p=0,05$.

Результаты и обсуждение

На стационарном лечении в 2011 году пребывали 40 пациентов в возрасте $34,26 \pm 1,22$ лет, среди которых мужчин – 65%; из 20 пациентов в возрасте $37,55 \pm 1,1$ лет, находящихся на госпитализации в 2017 году, мужчин - 70%. Длительность инфицирования ВИЧ на момент госпитализации в стационар - $6,7 \pm 0,6$ и $7,02 \pm 0,6$ лет в

2011 и 2017 годах соответственно. Употребление психоактивных веществ в анамнезе от 2011 года выявлено у 70% пациентов, в 2017 году данный показатель равнялся 45%. В 2011 году АРВТ получали 32,5% пациентов; в 2017 году показатель охвата АРВТ был ниже на 12,5%. На момент 2011 года стадии ВИЧ-инфекции (в соответствии с классификацией Покровского В.И.) распределились следующим образом: 3 – 10% (АРВТ не получали), 4А – 20% (12,5% на АРВТ), 4Б – 27,5% (31% на АРВТ), 4В – 42,5% (47% на АРВТ); в 2017 году: 3 – 15% (АРВТ не получали), 4А – 35% (14% на АРВТ), 4Б – 50% (30% на АРВТ).

В 2011 году в структуре заболеваний инфекционного профиля преобладали бронхолегочные заболевания (42,5%): 47% случаев внебольничной пневмонии (очаговая, полисегментарная, интерстициальная, лобарная) и 53% случаев туберкулёза лёгких (инфильтративный, милиарный, туберкулёз внутригрудных лимфатических узлов) с преобладанием ВН РНК ВИЧ более 10 000 коп/мл и количеством CD4+-лимфоцитов менее 500 кл/мкл. Среди больных туберкулезом АРВТ получали 89%, с пневмониями – 75% (приверженность к лечению в обеих группах <95%). Частота бронхолегочных заболеваний в 2017 году – 25% (3 случая туберкулеза легких – все без АРВТ, 2 пациента с внебольничной пневмонией на АРВТ) с различными показателями ВН РНК ВИЧ и CD4+-лимфоцитов. Было отмечено, что химиопрофилактика туберкулеза была проведена у 30% пациентов в 2017 году и лишь у 5% в 2011. На момент 2017 года большую долю занимал диагноз «герпетическая инфекция, *herpes zoster*» - 80% (на момент 2011 года частота составляла 12%), при этом среди пациентов преобладали средние уровни как ВН РНК ВИЧ, так и CD4+-лимфоцитов. Свыше 90% пациентов не получали АРВТ в оба временных промежутка нахождения в стационаре, при этом больше половины находились в 4А стадии ВИЧ-инфекции (60% и 58% в 2011 и 2017 годах соответственно). Заболевания грибковой этиологии (онихомикоз, орофарингеальный кандидоз, кандидоз пищевода) чаще выявлены у 40% пациентов в 2011 году по сравнению с 2017 - 5% ($p=0,005$).

Медиана уровня CD4+-лимфоцитов на момент госпитализации в 2011 году была статистически значимо ниже - 188 [98;280] кл/мкл по сравнению с госпитализированными в 2017 году – 265 [202;371] кл/мкл ($p<0,05$). Медиана ВН РНК ВИЧ оказалась статистически значимо выше в 2011 году – 106800 [13700;131700] коп/мл по сравнению с 2017 годом – 41150 [24300;321250] коп/мл ($p<0,05$).

Септические состояния были установлены только в 2011 году у 15% пациентов: в первую очередь инфекционный эндокардит — 50,0%, сепсис в сочетании с менингитом, пневмонией, кардитом — 16,7%, гнойный менингит — 16,7%, гнойный артрит — 16,7%. Все пациенты, кроме больного с диагнозом «гнойный артрит», относились к группе активных потребителей инъекционных наркотиков (героин). Медиана ВН РНК ВИЧ при госпитализации – 330200 [64000; 492800] коп/мл, CD4+-лимфоцитов – 150 [33;238] кл/мкл. На АРВТ среди них находились 67%, однако приверженность к лечению была менее 95%.

Заключение

В 2017 году преобладали пациенты с диагнозом «герпетическая инфекция, herpes zoster» (80%) в 4А стадии без АРВТ с ВН РНК ВИЧ от 10 000 – 100 000 коп/мл и уровнем CD4+-лимфоцитов 200-500 кл/мкл по сравнению с 2011 годом, когда в 42,5% случаев регистрировались бронхолегочные заболевания (из них 53% составил туберкулёз лёгких, с превалированием больных в стадии 4В) с показателями ВН РНК ВИЧ более 10 000 коп/мл и количеством CD4+-лимфоцитов менее 500 кл/мкл. Данный факт коррелирует с большим удельным весом проведенной химиопрофилактики туберкулеза в 2017 году (30%) по сравнению с 2011 годом (5%). На фоне статистически значимо низких показателей CD4+-лимфоцитов и высокой ВН РНК ВИЧ в 2011 году по сравнению с 2017 достоверно чаще определялись вторичные заболевания – грибковые поражения, септические состояния.

На сегодняшний день тактика ведения ВИЧ-инфицированных заключается в назначении АРВТ всем пациентам вне зависимости от стадии заболевания, иммунного статуса и вирусной нагрузки РНК ВИЧ. Раннее назначение АРВТ пациентам (при соблюдении высокой приверженности) и химиопрофилактики туберкулеза при количестве CD4+-лимфоцитов менее 350 кл/мкл являются предикторами контроля над течением ВИЧ-инфекции, что должно привести к сокращению случаев госпитализации в ближайшие годы.

АССОЦИАЦИЯ РАКА ЖЕЛУДКА С ОНКОГЕННЫМИ ВИРУСАМИ ЧЕЛОВЕКА ЭПШТЕЙНА-БАРРА

Файзуллаева З. Р., Сейфуллаева Б.С

ASSOCIATION OF STOMACH CANCER WITH HUMAN EPSTEIN- BARR ONCOGENIC VIRUSES

Faizullaeva Z.R., Seifullaeva B.S.

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии
Ташкентская медицинская академия. Узбекистан

Актуальность Изучение роли вирусов в возникновении опухолей человека составляет важный аспект современных исследований в области онкологии. Среди различных онкогенных вирусов существенный интерес представляет вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ), который относится к семейству герпесвирусов, является убиквитарным и персистирует в организме человека в течение всей жизни. С этим вирусом связывают возникновение Африканской лимфомы Беркитта (ЛБ), недифференцированного рака

носоглотки (нРНГ), В-клеточных лимфом у больных с иммунодефицитами различного происхождения и др [4.6].

Спектр патологических процессов у человека, в возникновении которых, как полагают, участвует ВЭБ, постоянно расширяется. В настоящее время широко обсуждается вопрос о роли ВЭБ в процессе канцерогенеза эпителиальных клеток желудка. Прямые доказательства ассоциации ВЭБ и рака желудка (РЖ) получены в результате обнаружения в опухолевых клетках ряда вирусных маркеров таких, например, как РНК гена EBER1, белков EBNA1 и LMP2. [2]. Кроме того, установлено, что опухолевые клетки, несущие геном вируса моноклональны. Вирусные маркеры находили в опухолевых клетках желудка любой морфологической структуры, но наиболее часто при низкодифференцированных формах с интенсивной лимфоидной пролиферацией [1.5].

Учитывая тот факт, что практически 95-100% населения планеты инфицировано ВЭБ, механизм возникновения ассоциированных с этим вирусом заболеваний, включая и РЖ, остается открытым. Возникает вопрос, один и тот же или разные генетические варианты вируса персистируют у здоровых и больных лиц, в опухолевых и морфологически "нормальных" клетках. В этой связи, ген ВЭБ - BNRF1, кодирующий латентный мембранный белок 1 (LMP1) представляет особый интерес. Во-первых, это один из 6 немногих генов ВЭБ, который обладает трансформирующим потенциалом; во-вторых, определенные структурные перестройки этого гена способствуют увеличению трансформирующего потенциала вируса /53/. Возможно, дальнейший глубокий молекулярно-биологический анализ "опухолевых" и "неопухолевых" вариантов ВЭБ позволит, по крайней мере, приблизиться к решению поставленного вопроса [3.7.].

Рак желудка в Узбекистане занимает одно из ведущих мест среди наиболее часто встречающихся новообразований человека. В связи с этим, поиск ВЭБ-ассоциированных случаев РЖ (ВЭБ+РЖ), определение их частоты среди всех опухолей этой локализации, а также выяснение роли вируса в их этиопатогенезе, представляется актуальной научной и практической задачей.

Целью исследования является обнаружение ВЭБ-ассоциированных форм рака желудка в некоторых регионах с различным уровнем заболеваемости РЖ, определение их удельного веса среди новообразований желудка, серологическая характеристика, а также детальное вирусологическое, молекулярно-биологическое и морфологическое изучение.

Материал и методы: В ходе выполнения исследований предполагалось решить следующие задачи: создать архив клинического материала от больных РЖ (парафиновые блоки с фрагментами опухолей, операционный материал, сыворотки крови); исследовать опухолевый материал от больных РЖ из нескольких регионов России и стран бывшего СССР на присутствие вирусной информации в реакции гибридизации *in situ* (ISH) с использованием в качестве вирусного маркера РНК гена EBER1 ВЭБ; проанализировать морфологическую структуру случаев РЖ, ассоциированных с ВЭБ; провести скрининг

сывороток больных РЖ и здоровых носителей на наличие и титры антител к белкам литического цикла ВЭБ; определить первичную нуклеотидную структуру одного из генов латентной инфекции ВЭБ - LMP1, амплифицированного из образцов опухолевой и морфологически неизменной тканей желудка, больных ВЭБ-ассоциированной формой РЖ; субклонировать полученные варианты LMP1 ВЭБ в эукариотический экспрессирующий вектор и изучить их функциональное поведение.

Результаты: Рак желудка, ассоциированного с ВЭБ, чаще встречаются среди мужчин (16,8%), чем среди женщин (4,5%); преимущественно для аденокарциномы низкой степени злокачественности с тяжелым ростом (18,0%) и умеренно дифференцированной тубулярной аденокарциномы (15,3%); редко локализовались в антральном отделе желудка (5,5%); 80–100% опухолевых клеток содержат генетическую информацию о ВЭБ.

Выводы: Вирусологического, молекулярно-биологического и клинικο-морфологического исследования показала наличие ВЭБ-ассоциированных форм РЖ (ВЭБ+РЖ). Согласно ретроспективным исследованиям (614 случаев) частота ВЭБ+РЖ составляет 7,3-15,7%. ВЭБ-ассоциированные случаи РЖ: чаще встречаются среди мужчин (16,8%), чем среди женщин (4,5%); в основном принадлежат к низкодифференцированной аденокарциноме с солидным ростом (18,0%) и умеренно дифференцированной тубулярной аденокарциноме (15,3%); редко локализируются в антральной части желудка (5,5%); 80-100% опухолевых клеток содержат генетическую информацию ВЭБ, в то время как инфильтрирующие опухоль лимфоциты вирусного материала не содержат.

Литература

1. Авдеенко Т.В., Вусик М.В., Евтушенко В.А., Матвеев О.А., Уразова Л.Н. Частота выявляемости вируса Эпштейна-Барр у пациентов с предопухоловой патологией желудка. // Сибирский онкологический журнал. - 2010. - № S2
2. Bass AJ. Комплексная молекулярная характеристика аденокарциномы желудка. Природа. 2014; 513: 202–9.
3. Галлей М.Л. Геномные анализы аденокарциномы желудка, положительной на вирус Эпштейна-Барра. Exp Mol Med. 2015; 47: e134.
4. Гурцевич В.Э // Роль вируса Эпштейна –Барр в онкогематологических заболеваниях человека // РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва 2010г №3. Том 3 С 222-232
5. Iwakiri D, Takada K. Фосфатидилинозитол 3-киназа является детерминантой реакции на активацию вируса Эпштейна-Барра, опосредованную рецептором В-клеточного антигена. J Immunol. 2004; 172: 1561–6.
6. Соломай Т. В. Патология желудочно-кишечного тракта при инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр . // Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение. – 2020. - Т. 9, №. 3 (34). - С. 74-78.

7. Игнатова Е.О., Серяк Д.А., Федянин М.Ю. Молекулярный портрет рака желудка, ассоциированного с вирусом Эпштейна–Барр. // Успехи молекулярной онкологии. - 2020. -7(3). – С.27-36.

АНАЛИЗ ВИДОВОГО СОСТАВА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОНИХОМИКОЗОВ КИСТЕЙ И СТОП У ДЕТЕЙ

Халдеева Е.В.¹, Лисовская С.А.^{1,2}, Глушко Н.И.¹

ANALYSIS OF THE SPECIES COMPOSITION OF THE CAUSATIVE AGENTS OF BRUSH AND FOOT ONYCHOMYCOSIS IN CHILDREN

Khaldeeva E.V. 1, Lisovskaya S.A. 1,2, Glushko N.I. 1

¹ФБУН Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора,
Казань

²ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Казань

Широкое распространение грибковых заболеваний, в частности, дерматомикозов, по всему миру обуславливает интерес к возбудителям этих заболеваний. Онихомикозы - грибковое поражение ногтя и ногтевого валика на руках или ногах, согласно данным ВОЗ, являются наиболее распространенными инфекционными поражениями кожи, затрагивая, по данным исследований, до 10–20% населения мира [1-3]. Заболеваемость онихомикозами в мире несколько выше у мужчин и резко возрастает в пожилом возрасте (после 60 лет онихомикоз встречается в 3 – 4 раза чаще) [2]. У детей онихомикозы встречаются в 5 раз реже, чем у взрослых. Тем не менее, при появлении изменений на ногтевой пластине ребенка этот диагноз исключать нельзя. На его долю приходится 15 % случаев от всех патологий ногтей у детей. На протяжении последних лет в педиатрии наблюдается тенденция увеличения заболеваемости онихомикозом [4].

В ряде случаев сложно бывает дифференцировать онихомикоз от ониходистрофии неинфекционной этиологии (псориаз, особенно пустулезный, красный плоский лишай, акродерматит энтеропатический и др.). Поражение ногтя, возникшее однажды на фоне какого-либо хронического дерматоза, например псориаза, в дальнейшем часто осложняется вторичным присоединением микотической инфекции. При этом недерматомицетные возбудители — плесневые и дрожжеподобные грибы— обнаруживаются чаще, чем в среднем по популяции [4].

Грибковое поражение ногтей может быть вызвано различными видами микроорганизмов. Пораженные ногтевые пластины могут служить хроническим

резервуаром инфекции, способствуя ее распространению на другие локусы, а также среди других людей, в т.ч. членов семьи, в особенности детей.

Возникновению онихомикоза у детей способствуют различные факторы, с которыми дети сталкиваются обычной жизни:

- Контакт с зараженными поверхностями в условиях повышенной влажности (в бассейнах, детсадах, банях и т.п.);
- Контакт с зараженными спорами грибов обувью и одеждой;
- Контакт с инфицированными грибок окружающими людьми, чаще всего, членами семьи или нянями;
- Деформация ногтевых пластин после ушибов, ударов или ходьбы в неудобной обуви, нарушения кровообращения;
- Повреждение ногтевых пластин вследствие онихофагии.

Чтобы обезопасить ребенка от грибковой инфекции, [родители](#) и ближайшее окружение должны соблюдать простые правила, предохраняя детей от контакта с людьми, зараженными грибок, а также тщательно оберегая ногти от травм и деформаций [4].

Клинический диагноз онихомикоза, как любого инфекционного заболевания, должен быть подтвержден обнаружением возбудителя в очаге поражения. При этом у детей, вследствие формирующегося иммунитета, спектр возбудителей достаточно широк, а число разрешенных для лечения препаратов ограничено, что придает актуальность изучению видового состава возбудителей.

Материалы и методы. Обследовано 490 детей в возрасте от 0 до 14 лет, в том числе: 250 детей с подозрением на онихомикоз кистей и 240 детей с подозрением на онихомикоз стоп. Средний возраст составил 6,7 лет и 7,5 лет у детей с подозрением на онихомикоз кистей и стоп соответственно.

Всем пациентам проводилось микологическое исследование ногтевых пластин и пудры. Биоматериал у пациентов отбирали, исключив применение лекарственных препаратов не менее чем за 7 дней

Результаты исследования и их обсуждение.

В результате проведенных исследований у 216 пациентов (86,4%) с подозрением на онихомикоз кистей и 204 детей (85,0%) с подозрением на онихомикоз стоп в посевах выявлено присутствие грибов.

У пациентов с подозрением на онихомикоз кистей отмечали преобладание *Candida albicans*, выявленной в 44,1% случаев, в том числе – в 25,3% в качестве единственного возбудителя. Другие представители рода *Candida* были выявлены у 15,8% пациентов, причем чаще (в 14,6% случаев) в сочетании с другими видами грибов. Присутствие *Trichophyton rubrum* было отмечено у 32,4% этих пациентов, при этом в 13,1% случаев этот вид выявлен в монокультуре. У 19,3% пациентов отмечено сочетанное поражение ногтевых пластин *Trichophyton rubrum* и дрожжеподобными грибами, а также *Trichophyton rubrum*, дрожжеподобными и плесневыми грибами. Помимо этого, на

ногтевых пластинах кистей у детей отмечали присутствие *Rhodotorula mucilaginosa* (10,5% случаев, в т.ч. в 5,9% в монокультуре), а также плесневых грибов (26,4%). Среди плесневых грибов у детей чаще выделяли представителей рода *Aspergillus* (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*), обычно в качестве сопутствующей микобиоты, однако в 7,6% случаев был отмечен рост *Aspergillus spp.* в качестве единственного возбудителя непосредственно из клинического материала.

Анализ результатов микологического исследования биоматериала от пациентов с подозрением на онихомикоз стоп показал, что ведущим возбудителем этого заболевания у детей является *Trichophyton rubrum*, выявленный в 64,2% случаев, в т.ч. в 37,4% - в качестве единственного возбудителя. Присутствие других представителей *Trichophyton* отмечено в 2,8% случаев (*T.tonsurans*, *T.mentagrophytes*). В то же время, на ногтевых пластинах у детей достаточно часто выявляли дрожжеподобные грибы. Так, в 30,5% случаев отмечали присутствие *Candida albicans* (в 8,5% - в монокультуре), в 12,7% случаев были выявлены другие представители рода *Candida* (в 6,1% случаев – в монокультуре) и в 5,1% случаев – *Rhodotorula mucilaginosa* (в 2,1% случаев – в качестве единственного возбудителя). Плесневые грибы были выявлены в 25,6% случаев, но только у 3,7% пациентов был отмечен их рост в монокультуре, не менее чем в пяти точках посева клинического материала.

Следует отметить, что частота выявления плесневых грибов с ногтевых пластин кистей и стоп у детей практически не отличается, но при этом вероятность возникновения у детей онихомикоза кистей, вызванного плесневыми грибами, в 2 раза выше, чем онихомикоза стоп.

Выводы. Проведенное исследование показало, что ведущую роль в возникновении онихомикоза стоп у детей играет *Trichophyton rubrum*, а онихомикоза кистей - *Candida albicans* и *Trichophyton rubrum*. В то же время, часто отмечается сочетанный характер поражения грибами-дерматомицетами и дрожжеподобными грибами, а также присоединение плесневой микобиоты. Таким образом, эффективность терапии в значительной мере будет определяться чувствительностью к препаратам не только *Trichophyton rubrum*, но и других представителей микобиоты ногтевых пластин

Список использованной литературы:

1. Achterman R. R., White T. C. Dermatophyte Virulence Factors: Identifying and Analyzing Genes That May Contribute to Chronic or Acute Skin Infections// Hindawi Publishing Corporation International Journal of Microbiology. Volume 2012, Article ID 358305, 8 pages doi:10.1155/2012/358305
2. Цыкин А.А., Ломоносов К.М. Онихомикоз: этиология, диагностика, клиника и лечение// Русский медицинский журнал. 2007 № 19. С.1371-1375.

3. Белоусова Т.А. Онихомикозы: особенности современного течения и рациональные терапевтические решения// Русский медицинский журнал. 2007 № 19. С.1383-1388.

4. Касихина Е. И. Яковлев А. Б. Онихомикозы// Лечащий врач. 2012. №5. (31.05.2012) <https://www.lvrach.ru/2012/05/15435426>.

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ И МЕХАНИЗМЫ
УСТОЙЧИВОСТИ К КОЛИСТИНУ КАРБАПЕНЕМРЕЗИСТЕНТНЫХ
KLEBSIELLA PNEUMONIAE: НОВЫЙ МИНИАТЮРНЫЙ МОБИЛЬНЫЙ
ЭЛЕМЕНТ С ИНВЕРТИРОВАННЫМИ ПОВТОРАМИ MITEKPN1**

Шамина О.В.,¹ Алябьева Н.М.,² Лазарева А.В.,² Маянский Н.А.¹

**MOLECULAR EPIDEMIOLOGY AND MECHANISMS OF
RESISTANCE TO COLISTIN CARBAPENEM RESISTANT
KLEBSIELLA PNEUMONIAE: NEW MINIATURE MOBILE ELEMENT
WITH INVERTED REPEATS MITEKPN1**

Shamina O.V., Alyabyeva N.M., Lazareva A.V., Mayansky N.A.

¹ РДКБ ФГАОУ ВО РНИМУ им Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

² ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, Москва, Россия

Klebsiella pneumoniae является грамотрицательной бактерией, принадлежащей семейству *Enterobacteriaceae*, которая колонизирует многие ниши организма человека, включая дыхательные пути, желудочно-кишечный тракт и кожу. Особую обеспокоенность вызывает появление и глобальное распространение карбапенемрезистентных (Карба-Р) *K. pneumoniae*. Поскольку устойчивость к карбапенемам в большинстве случаев сочетается с резистентностью к другим antimicrobным препаратам, это существенно ограничивает возможности терапии. Карбапенемрезистентность может быть свойственна многим сиквенс-типам (ST) *K. pneumoniae*, однако большинство Карба-Р изолятов принадлежит к узкому кругу успешных клонов, которые доминируют в структуре госпитальных популяций повсеместно. Одним из препаратов, сохраняющих активность в отношении Карба-Р грамотрицательных организмов, является поликатионный антибиотик колистин (полимиксин Е), бактериостатический эффект которого связан с воздействием на липополисахарид клеточной стенки бактерий. Возросшее вслед за этим использование колистина в клинике привело к появлению и распространению колистинрезистентности. Резистентность к колистину у Карба-Р *K. pneumoniae* чаще всего связывают с инактивацией гена *mgrB* в результате различных хромосомных перестроек. К ним

относят повреждение *mgrB* несколькими типами вставочных элементов (insertion sequence, IS), в первую очередь IS1- и IS5-подобными элементами (например, IS*Kpn14* и IS*Kpn26* соответственно), а также точечные мутации и делеции локуса *mgrB* разных размеров.

В связи с этим в данном исследовании мы охарактеризовали популяционную структуру и молекулярные механизмы резистентности к колистину коллекции клинических Карба-Р изолятов *K. pneumoniae* города Москвы, собранные за период 2012-2017 гг. МПК к меропенему и имипенему определяли методом E-тестов (BioMerieux) на среде Мюллера-Хинтона (BioRad). МПК к колистину определяли эталонным методом микроразведений в соответствии с Национальным стандартом Российской Федерации (ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010). Для генотипирования штаммов *K. pneumoniae* использовали метод МЛСТ согласно схеме Pasteur. Для детекции гена *mgrB* использовали метод ПЦР с последующим секвенированием по методу Сэнгера. Идентификацию IS-элементов проводили на основе базы данных ISfinder. Полногеномное секвенирование проводили на приборе Illumina HiSeq1500.

Всего среди 159 Карба-Р штаммов *K. pneumoniae* было выявлено 18 сиквенс-типов. Большая часть коллекции (n=138, 86%) относилась к пяти доминирующим сиквенс-типам: ST307 (n=46, 29%), ST395 (n=40, 25%), ST377 (n=17, 10%), ST48 (n=17, 10%) и ST23 (n=16, 10%).

Резистентность к колистину продемонстрировал 71 (45%) Карба-Р изолят *K. pneumoniae*. Изменения *mgrB* были обнаружены у 23 (32%) Кол-Р изолятов. В 4 (17%) изолятах была обнаружена делеция всего локуса *mgrB*. У 13 (56%) изолятов *mgrB* был поврежден вставочными элементами четырех различных типов (IS1A, IS1R, IS*Kpn14*, и IS*Kpn26*) из семейств IS1 и IS5, внедренными в разные позиции *mgrB*.

Наибольший интерес представляет обнаруженный в *mgrB* шести (26%) Кол-Р изолятов миниатюрный мобильный элемент с инвертированными повторами (Miniature Inverted repeat Transposable Elements, MITE). Такой тип вставочных элементов в составе генома *K. pneumoniae* был обнаружен и описан впервые, и координаторами базы данных ISfinder ему было присвоено название MITE*Kpn1*. MITE*Kpn1* состоял из 109 bp, принадлежал к семейству вставочных элементов IS5, не имел открытых рамок считывания и содержал прямые повторы (direct repeat, DR) размером 4 bp (СТАА). MITE*Kpn1* был обнаружен в гене *mgrB* в позиции 75 у шести изолятов ST307. Нуклеотидная последовательность MITE*Kpn1*, встроенного в *mgrB*, была внесена в международную базу данных GenBank под номером MK241841 и в базу данных ISfinder под номером CP018364.

MITE*Kpn1* был ретроспективно обнаружен еще в 5 штаммах *K. pneumoniae* с диким типом гена *mgrB*. В трех Карба-Р изолятах ST307 MITE*Kpn1* присутствовал в гене основного поринового белка OprK36 в нуклеотидных позициях 98 (в двух штаммах) и 956 (у одного штамма). Еще в двух изолятах (ST395) MITE*Kpn1* был обнаружен при анализе результатов полногеномного секвенирования. В одном штамме MITE*Kpn1* был

внедрен в ген эффлюксного RND транспортера, у другого штамма он находился в генах двух гипотетических белков. Таким образом, новый вставочный элемент *MITEKpn1* был обнаружен в 11 (7%) Карба-Р штаммах *K. pneumoniae* ST307 и ST395.

Большинство Карба-Р *K. pneumoniae* в нашей коллекции относилось к пяти глобальным клонам, причем два генотипа, ST307 и ST395, суммарно охватывали долю 54%. Существенная доля (45%) исследованных нами Карба-Р изолятов была устойчива к колистину. Вероятный механизм устойчивости к колистину был определен у 36% исследованных Кол-Р *K. pneumoniae*. В большинстве случаев мы обнаружили повреждение гена *mgrB* за счет вставочных элементов и крупных делеций. У шести изолятов ST307 мы описали новый тип вставки в гене *mgrB*, *MITEKpn1*, который был внедрен между нуклеотидными позициями 74 и 75. Этот участок *mgrB* является «горячей точкой» для IS5-подобных элементов. Теоретически, при наличии таких «горячих точек» миграция по бактериальному геному небольших вставочных элементов, подобных *MITEKpn1*, может облегчать формирование колистинрезистентности даже в отсутствие селективного давления антибиотика. Эта гипотеза может служить одним из объяснений возникновения Кол-Р *K. pneumoniae* без предшествующего воздействия колистина.

ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНОВ КАРБАПЕНЕМАЗ В ПОПУЛЯЦИИ ФЕНОТИПИЧЕСКИ МНОЖЕСТВЕННО-РЕЗИСТЕНТНЫХ *A. BAUMANNII*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ ОТДЕЛЕНИЙ РЕАНИМАЦИИ И ХИРУРГИИ

Янович О.О., Титов Л.П.

CHARACTERISTICS OF CARBAPENEMASE GENES IN A POPULATION OF PHENOTYPICALLY MULTIPLY-RESISTANT *A. BAUMANNII* ISSUED FROM PATIENTS IN RESIDUAL AND SURGERY UNITS

Yanovich O.O., Titov L.P.

Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, г.
Минск, Республика Беларусь

Введение

В настоящее время проблема антибиотикорезистентности клинически значимых грамотрицательных бактерий приобрела критическое значение для здравоохранения. В связи с этим в 2015 г. Всемирная ассамблея здравоохранения приняла глобальный план действий по борьбе с устойчивостью к антимикробным препаратам (АМП). Одним из направлений национального стратегического плана Республики Беларусь является

мониторинг циркуляции резистентных штаммов микроорганизмов и распространенности генов, детерминирующих устойчивость к АМП.

В структуре грамотрицательных бактерий – возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи – значимое место занимают представители семейства *Enterobacteriaceae* и группы неферментирующих глюкозу бактерий, включая *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*. *A. baumannii* часто является причиной инфекций дыхательных путей, кровотока, мочевыводящих путей, раневой и хирургической инфекций, инфекций кожи и мягких тканей.

Штаммы *A. baumannii* обладают значительно более низкой природной чувствительностью к большинству бета-лактамовых антибиотиков, включая пенициллины и цефалоспорины, по сравнению с представителями семейства *Enterobacteriaceae*. В связи с этим для лечения инфекций, вызванных данными возбудителями, обычно используются карбапенемы, что и обуславливает прогрессивный рост резистентности к ним.

Одними из основных детерминант антибиотикорезистентности, обуславливающих резистентность к карбапенемам, являются карбапенемазы. Гены, кодирующие карбапенемазы, входят в состав мобильных генетических элементов, что способствует их быстрому горизонтальному распространению в госпитальной среде.

На основании структуры активного центра карбапенемазы подразделяют на две группы:

а) сериновые, содержащие серин в своем активном центре. Они относятся к молекулярному классу D; б) металло- β -лактамазы, содержащие в активном центре атом цинка и относятся к молекулярному классу В.

Цель исследования - оценить распространенность генов карбапенемаз среди клинических фенотипически множественно-резистентных штаммов *A. baumannii*, выделенных у пациентов хирургических отделений и отделений реанимации различных областей Республики Беларусь.

Материалы и методы

Материалом для микробиологического анализа являлись 95 штаммов множественно-резистентных *A. baumannii*, собранных от взрослых пациентов отделений реанимации и хирургии из различных областей Республики Беларусь.

Чувствительность микроорганизмов к восьми антимикробным препаратам определяли диско-диффузионным методом используя Мюллер-Хинтон агар. Результаты тестирования интерпретировали в соответствии с критериями Европейского комитета по определению чувствительности к антибиотикам (EUCAST).

Выделение ДНК проводили из суточной культуры, выращенной на МПА, с помощью набора «РИБО-преп» (Россия), согласно инструкции производителя по его применению. Идентификация полученных чистых культур микроорганизмов

проводилась методом ПЦР в режиме реального времени с использованием видоспецифичных праймеров.

Наличие генов карбапенемаз класса D (групп ОХА-23, ОХА-24/40, ОХА-51) и класса В (VIM, IMP, NDM) определяли методом ПЦР с геноспецифическими праймерами.

Результаты

Результат оценки фенотипически множественно-резистентных штаммов *Acinetobacter baumannii*, выделенных от пациентов хирургических и реанимационных отделений показал, что доля резистентных штаммов ацинетобактера к карбапенемам – имипенему и меропенему – составила 99 % и 96,9%, соответственно. Доля резистентных штаммов к гентамицину составила 88,4%, к амикацину 93,7%.

Наименьшей фенотипической резистентностью обладали штаммы ацинетобактера в отношении триметаприм-сульфаметоксазола – 86,3%. К фторхинолонам – ципрофлоксацину и левофлоксацину – резистентность была более высокой - 100% и 96,8%, соответственно.

Все штаммы *A. baumannii* были протестированы на наличие карбапенемаз ОХА-23, ОХА-24/40, ОХА-51. Среди исследованных штаммов *A. baumannii* наибольшую распространенность (99% изолятов, 95/96) имела видоспецифичная карбапенемаза ОХА-51.

Также с высокой частотой выявлен ген blaОХА-24/40 – 96,7%. Еще у 43 изолятов (45,3%) определялся ген blaОХА-23. Среди blaОХА-51 положительных изолятов у 95,6% выявлено наличие генов группы blaОХА-24/40. Комбинация групп генов blaОХА-51/blaОХА-24/blaОХА-23 определена в 41 штамме (43,2%).

Общая распространенность гена blaVIM среди изолятов *A. baumannii*, полученных из хирургических отделений и отделений реанимации составила 22,1%. Установлено, что все штаммы *A. baumannii* несущие ген blaVIM также имеют гены сериновых карбапенемаз ОХА51 и ОХА24/40.

Носительство других типов карбапенемаз - blaNDM и blaIMP у штаммов *A. baumannii* не обнаружено.

Заключение. Исследованием установлено, что у нечувствительных к карбапенемам штаммов *A. baumannii* ведущим механизмом формирования устойчивости является передача гена карбапенемазы ОХА-24/40, который выявлен у 96,7% штаммов. Своевременное выявление изменений в распространении типов бета-лактамаз имеет практическое и теоретическое значение, так как позволяет корректировать рекомендации по антибактериальной терапии нозокомиальных инфекций, разрабатывать экспрессные

молекулярные методы детекции антибактериальной резистентности, представляет важную информацию для создания новых препаратов, преодолевающих резистентность.

АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА И ПЕРСИСТЕНТНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАНЕВОГО ОТДЕЛЯЕМОГО ПАЦИЕНТОВ С ЛОКАЛЬНЫМИ И ОБШИРНЫМИ РАНАМИ

Ю.И. Ярец

ADHESIVE PROPERTIES AND PERSISTENT POTENTIAL OF CLINICAL ISOLATES STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLATED FROM WOUND SEPARATES OF PATIENTS WITH LOCAL AND LARGE WOUNDS

Yu.I. Yarets

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

Staphylococcus aureus относится к категории клинически значимых штаммов и подлежит обязательному мониторингу в организациях здравоохранения в рамках проводимого инфекционного контроля. По причине высокого патогенного и персистентного потенциала *S. aureus* относят к одним из важных возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Широкое распространение, возможность формирования устойчивости к антимикробным лекарственным средствам, множество путей и факторов передачи дополнительно определяют значение *S. aureus* и как госпитального штамма.

Особой категорией для наблюдения являются пациенты с ранами. Рана определяет потерю кожного барьера, а некротические ткани являются благоприятной основой для бактериальной колонизации. Раны требуют проведения различных инвазивных манипуляций, поэтому представляют собой источник распространения госпитальных штаммов, обладающих дополнительными механизмами патогенности и лекарственной резистентностью. С другой стороны, микробный фактор является доказанной причиной задержки заживления. Инфекция превращает острую рану в хроническую, для которой характерен вялотекущий воспалительный процесс с нечеткой клинической картиной. Хроническая рана остается открытой на протяжении длительного времени, что создает условия для формирования на ее поверхности полимикробной биопленки, содержащей так называемые дормантные (спящие) формы бактерий, ускользающие от действия

защитных иммунных реакций и экспрессирующие дополнительные патогенные свойства.

Изучение факторов патогенности *S. aureus* представляет собой особый интерес, что связано с высокой пластичностью биологических свойств *S. aureus*. Определение взаимосвязи изменений патогенных свойств с характером течения патологического процесса может быть дополнительными критериями оценки этиологической значимости.

Цель: оценить адгезивные и персистентные свойства изолятов *S. aureus*, выделенных из раневого отделяемого пациентов с локальными и обширными ранами.

Материал и методы

Объектом исследования были 248 штаммов *S. aureus*, выделенные из проб раневого отделяемого пациентов, находящихся на стационарном лечении в ГУЗ «Гомельская городская клиническая больница №1» г. Гомеля в период 2011–2020 гг. Анализировали изоляты *S. aureus* (n=71), полученные в динамике из обширных ран пациентов с ожоговой болезнью (n=33), которые находились в отделении реанимации. Также в исследование включали изоляты *S. aureus* (n=72), полученные из острых локальных ран (срок существования раны до 3-х недель, 72 пробы раневого отделяемого) и изоляты *S. aureus* (n=105) хронических локальных ран (срок раны более 3-х недель, 105 пробы). Биологические образцы пациентов с локальными ранами получали на момент поступления в ожоговое отделение пациентов с разными сроками существования ран. Микробиологический посев выполняли полуколичественным секторным методом, который дополняли культивированием биологического материала в течение 24 ч в среде обогащения. Биохимическую идентификацию *S. aureus* проводили по наличию каталазной, лецитиназной, гемолитической активности, реакции плазмокоагуляции, ферментации маннита и др., с использованием стандартных микробиологических методов. При представлении количественных характеристик объединяли изоляты, полученные в количестве $\leq 10^5$ КОЕ/мл и $>10^5$ КОЕ/мл, а также указывали изоляты, полученные после культивирования в среде обогащения.

Исследование биологических свойств *S. aureus* проводили общепринятыми методами. Адгезивную активность (АА) изучали по методике В.И. Брилиса (1986). При интерпретации результатов использовали индекс адгезивности микроорганизмов (ИАМ) – среднее количество микробных клеток на эритроците. При ИАМ $\leq 1,75$ штаммы *S. aureus* считали неадгезивным, при ИАМ в диапазоне от 1,76 до 2,5 – низкоадгезивными, при ИАМ от 2,51 до 4,0 – среднеадгезивными при ИАМ $\geq 4,1$ – высокоадгезивными [1].

Исследование антикомплиментарной активности (АКА) и антилизоцимной активности (АЛА) проводили по общепринятым методам. Для определения АКА в качестве индикаторной культуры использовали штамм *Escherichia coli*, для определения АЛА – штамм *Micrococcus luteus*. При интерпретации результатов определения АКА штаммы считали активными при инактивации комплемента в концентрации 50 ЕД/мл (3), умеренно активными – в концентрации 25 ЕД/мл (2), низкоактивными – в концентрации 12,5 ЕД/мл (1) [2]. За уровень АЛА исследуемых культур принимали максимальное

значение концентрации лизоцима в среде, при которой еще наблюдается рост индикаторного штамма. Интерпретацию результатов проводили следующим образом: отсутствует; низкая: 1–2 мкг/мл; умеренная: 3–5 мкг/мл; выраженная: более 5 мкг/мл [3]. Для исследования антиинтерфероновой активности (АИА) определялась антагонистическая активность исследуемого штамма по отношению к индикаторному штамму *Corynebacterium xerosis* при росте в питательном агаре, содержащем препарат человеческого лейкоцитарного интерферона [4].

Для статистической обработки результатов использовали частотный анализ в таблицах сопряженности с расчетом критерия χ^2 и точного двустороннего критерия Фишера. Значимость различий определяли при $p < 0,05$. Статистические исследования, построение графиков проводили с помощью программного пакета «STATISTICA 6.1» (StatSoft Inc., США, регистрационный номер лицензионной версии GS-35F-589).

Результаты и обсуждение

Адгезия является первым шагом для развития инфекционного процесса. От степени успешности данного процесса будет зависеть дальнейшая колонизация микроорганизмами. Как известно, *S. aureus* является достаточно высокоадгезивным микроорганизмом [5]. В представленном исследовании изоляты *S. aureus* преимущественно обладали средним (34,7%, $n=86$) и высоким (30,2%, $n=75$) уровнем АА, реже встречались низкоадгезивные штаммы (24,6%, $n=61$), минимальной была частота неадгезивных штаммов (10,5%, $n=26$). Необходимо отметить, что АА была связана с количественными характеристиками *S. aureus*: изоляты в количестве $>10^5$ КОЕ/мл преимущественно были высоко или умеренно адгезивными. В свою очередь, среди штаммов, обнаруживаемых после использования условий дополнительного культивирования, количество высоко адгезивных представителей было значимо меньше ($\chi^2=35,528$; $p < 0,001$). Наибольшую АА показывали изоляты *S. aureus*, выделенные в виде монокультур ($\chi^2=108,225$; $p < 0,001$). При обнаружении *S. aureus* в составе ассоциаций, особенно в случаях низкого микробного числа, АА снижалась. Обнаружены различия в уровне проявления АА в зависимости от характера раневого процесса. Из обширных ран пациентов с ожоговой болезнью штаммы *S. aureus* часто выделялись неадгезивные штаммы (22,5%, $n=16$), в то время как из локальных острых и хронических ран неадгезивные *S. aureus* выделялись с минимальной частотой (6,9% и 4,8%, соответственно).

Способность бактерий преодолевать защиту организма хозяина от инфекционных агентов характеризует адаптационные возможности микробных клеток и обеспечивает их персистенцию. Продукция секретлируемых факторов, инактивирующих защиту хозяина (в основном это протеазы), признается одним из важнейших составляющих персистентного потенциала бактерий [6]. Лизоцим или N-ацетилмурамидаза является ферментом, разрывающим 1-4 β -гликозидную связь между N-ацетилглюкозамином и N-ацетилмураминовой кислотой в молекуле пептидогликана клеточной стенки бактерий, в результате чего происходит лизис бактерий. Полагают, что АЛА способствует

длительной выживаемости бактерий в макроорганизме и может быть использована в условиях баклабораторий для оценки этиологической роли выделенных культур. Антиинтерфероновый признак – автономное свойство микроорганизмов, предназначенное для целенаправленного, специфического инактивирования бактерицидной фракции человеческого лейкоцитарного интерферона. Комплемент, как естественный фактор резистентности организма, обеспечивает выраженность проявления защитных сил против патогенных и потенциально-патогенных микроорганизмов. Но он может подвергаться бактериальной деградации, и, таким образом, АКА бактерий способствует их длительному персистированию в организме.

Обнаружена вариабельность проявления персистентных свойств у клинических изолятов *S. aureus*, выделенных из раневого отделяемого пациентов. Их хронических ран и обширных ожоговых ран преимущественно выделялись штаммы с выраженной АКА (42,9% и 57,7%, соответственно), тогда как в острых ранах чаще встречались *S. aureus* с низкой и умеренной АКА (31,9% и 33,3%), $\chi^2=39,952$; $p<0,001$. В наибольшей степени характером раневого процесса определялся уровень АЛА. В наиболее ранние сроки в острых ранах практически всегда определялись изоляты с отсутствием или минимальным уровнем АЛА (40,3% и 51,4%). В свою очередь, в хронических ранах и обширных ожоговых ранах 37,1% и 40,8% изолятов *S. aureus* обладали умеренной и выраженной АЛА ($\chi^2=66,590$; $p<0,001$). Аналогичная направленность различий выявлялась и для АИА, которая также преобладала для изолятов, выделенных из хронических и ожоговых ран ($\chi^2=48,845$; $p<0,001$). Более высоким персистентным потенциалом обладали изоляты *S. aureus*, обнаруженные в составе ассоциаций. Среди монокультур с минимальной частотой встречались *S. aureus* с выраженной АЛА, АИА, АКА.

Заключение

Проявление адгезивной активности и персистентных свойств (антикомплиментарной, антилизосимной, антиинтерфероновой активности) клинических изолятов *S. aureus* определяется культуральными особенностями *S. aureus* (количество, монокультура или ассоциация) и характером раневого процесса (обширность повреждения, срок существования раны). Изоляты *S. aureus*, выделенные монокультуре, в количестве $>10^5$ КОЕ/мл, преимущественно на ранних сроках существования острых ран, характеризовались наиболее высоким колонизационным и низким персистентным потенциалом. *S. aureus*, выделенные из хронических ран, обширных ожоговых ран, на поздних сроках существования острых ран, в составе ассоциаций, преимущественно со сред обогатления, либо в количестве $\leq 10^5$ КОЕ/мл, проявляли преимущественно персистентный потенциал, характеризуясь высокой АКА, АЛА, АИА.

Исследование выполнено в рамках финансируемого задания государственной программы научных исследований на 2021–2025 гг. ГПНИ 4 «Трансляционная медицина», подпрограмма 4.2 «Фундаментальные аспекты медицинской науки» по теме «3.20

Изучение патогенного потенциала клинически значимых штаммов бактерий для повышения эффективности системы инфекционного контроля в стационаре».

Список литературы

1. Шипицына, И.В. Оценка адгезивной активности бактерий, выделенных у пациентов с инфицированными эндопротезами крупных суставов / И.В. Шипицына, Е.В. Осипова, Н.В. Годовых // Клиническая лабораторная диагностика. – 2014. – № 6. – С. 59–61.
2. Бухарин, О.В. Изучение антикомплиментарной активности стафилококков // Журнал клинической лабораторной диагностики. – 1992. – № 3. – С. 43–46.
3. Бухарин, О.В. Антилизозимная активность анаэробных бактерий фекальной микрофлоры человека / О.В. Бухарин, А.В. Вальшов, Н.Н. Елагина // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2000. – №5. – С. 20–22.
4. Инструкция по применению «Методы оценки эпидемиологической значимости патогенных и условно-патогенных микроорганизмов»: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 18.06.2015 № 005-0515 / Нежвинская О.Е., Тонко О.В., Дудчик Н.В., Коломиец Н.Д. [и др.]. – Минск, 2015. – 30 с.
5. Пономаренко, С.В. Микробиологические аспекты стафилококковой инфекции на современном этапе (обзор литературы) / С.В. Пономаренко // Annals of Mechnikov Institute. – 2013. – №3. – С. 13–17.
6. Бухарин, О.В. Персистенция бактериальных патогенов как физиологический феномен / О.В. Бухарин // Вестник Московского университета. Биология. – 2008. – Сер. 16, №1. – С. 6–13.

КИШЕЧНАЯ МИКРОБИОТА МЫШЕЙ ПРИ ПОСТИНФЕКЦИОННОЙ МОДЕЛИ СИНДРОМА РАЗДРАЖЕННОГО КИШЕЧНИКА

*Яруллина Д.Р., Арзамасцева А.А., Александрова А.Ю., Новоселова В.А.,
Маркелова М.И., Яковлева О.В., Григорьева Т.В., Ситдикова Г.Ф.*

INTESTINAL MICROBIOTA OF MICE IN POST-INFECTIOUS MODEL OF IRRITATED INTESTINAL SYNDROME

*Yarullina D.R., Arzamastseva A.A., Aleksandrova A.Yu., Novoselova V.A.,
Markelova M.I., Yakovleva O.V., Grigorieva T.V., Sitdikova G.F.*

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

Синдром раздраженного кишечника (СРК) – это распространенное функциональное расстройство кишечника, характеризующееся стойкой или периодической абдоминальной болью, вздутием живота, изменением частоты и

характера стула (запор или диарея) и воспалительными процессами, при отсутствии анатомических или биохимических аномалий. Изучение причин и условий возникновения СРК остается одной из важнейших медико-социальных проблем современности. Способность кишечного микробиоценоза влиять на сенсорно-моторные функции кишечника, регулировать энтериную систему и порог висцеральной чувствительности указывают на важную роль дисбиотических сдвигов в развитии СРК. Выяснение роли кишечной микробиоты и микробных метаболитов в патогенезе этого заболевания позволит использовать полученные данные для разработки новых экспериментально и клинически обоснованных методов лечения СРК у человека. Целью работы является характеристика состава и функциональной роли сообщества микроорганизмов кишечника в постинфекционной модели СРК у мышей.

Исследование выполнено в соответствии с Директивой ЕС 2010/63/EU для экспериментов на животных и одобрено Локальным этическим комитетом КФУ (протокол №8 от 5.05.2015). Половозрелых белых мышей-самцов возраста 45–50 дней с массой 15–20 г содержали в условиях вивария КФУ с естественным световым режимом на полнорационной сбалансированной по содержанию питательных веществ диете для лабораторных животных, согласно ГОСТ Р 50258-92. Состояние угнетенной кишечной микробиоты, сходной с СРК, у животных опытной группы ($n = 10$) получали путем введения внутривентральных инъекций в течение двух недель с интервалом в один день свежеприготовленных растворов антибиотиков (мг/доза): неомицин – 1; ванкомицин - 5; амфотерицин В – 0.2; ампициллин – 2; метронидазол – 1. Животные контрольной группы ($n = 10$) в аналогичных условиях получали инъекции физиологического раствора. Микробиологический анализ фекалий выполняли с использованием питательных сред: БТН-агар, капустный агар, MRS, агар для бифидобактерий, среда Эндо и Плоскирева. Выделение ДНК из образцов слепой кишки и фекалий мышей и последующий метагеномный анализ состава микробных сообществ по гену 16S рРНК проводили в МЦКП КФУ для обеспечения клеточных, геномных и постгеномных исследований в Приволжском регионе.

В рассмотренной постинфекционной модели СРК, развивающегося вследствие приема антибактериальных препаратов, роль антибиотиков заключается в модулировании местных иммунных реакций, блокировании нормального функционирования эпителия кишечника, воздействии на передачу афферентной информации, связанной с висцеральной чувствительностью, а также влиянии на двигательную активность различных отделов ЖКТ.

Полученные данные секвенирования генов 16S рРНК были достаточными для охвата подавляющего большинства видов, содержащихся в исследуемых образцах фекалий и слепой кишки мышей, однако, значения индекса Чао1 указывали на то, что в среднем 18% таксонов в образцах могли быть не выявлены. Индексы видового разнообразия (индекс Шеннона) и доминирования (индекс Симпсона) в опытных образцах были ниже по сравнению с контрольной группой мышей, что указывает на

уменьшение в них видового разнообразия и нестабильность кишечной микробиоты. Преобладающей филой в микробном сообществе фекалий была фила *Bacteroidetes*, а в образцах кишки – *Firmicutes*. Показатель F/B у мышей с СРК был снижен, то есть обнаружили уменьшение количества *Firmicutes* и увеличение *Bacteroidetes*. Также увеличивалось содержание *Proteobacteria* и *Verrucomicrobia*. В образцах фекалий обнаружили более низкое биоразнообразие и численность микрофлоры, по сравнению с препаратами кишечника.

В обоих типах образцов (фекалии и образцы кишечника) от мышей с СРК отмечено возрастание численности класса *Bacteroidia*. Содержание бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, по данным секвенирования гена 16S рРНК, в фекалиях мышей с СРК было снижено по сравнению с контрольной группой, а в слепой кишке они полностью отсутствовали. По данным микробиологического анализа, в фекалиях мышей с СРК была снижена численность лактозоположительных и повышено содержание лактозоотрицательных энтеробактерий, в частности сальмонел и шигелл. Потенциальными маркерами СРК также считаются представители семейств *Lachnospiraceae* и *Ruminococcaceae*. В образцах кишечника мышей с СРК обнаружили увеличение содержания семейства *Ruminococcaceae* и снижение *Lachnospiraceae*, по сравнению с контрольной группой. Известно, что существует корреляция между уменьшением количества *Prevotella* и возрастанием тяжести симптомов СРК, однако в исследуемых образцах мы не зафиксировали значительных изменений в содержании данного рода между контрольной и опытной группами.

Содержание в кишечнике *Lactobacillus* (30% от общего количества всех идентифицированных ОТЕ) в опытной группе было выше, чем у контрольных животных (10%). По результатам микробиологического анализа различий в среднем содержании молочнокислых бактерий между этими двумя группами не было, но отмечено снижение культивируемых представителей рода *Lactobacillus*. Полученный результат определяет нецелесообразность применения пробиотиков в терапии данной патологии.

Увеличение числа продуцентов короткоцепочечных жирных кислот (КЖК) и их метаболитов является одним из вероятных триггеров развития СРК. Сероводород рассматривается как нейротрансмиттер, способный модулировать воспаление кишечника и висцеральную гиперчувствительность. В исследуемых образцах идентифицированы отдельные члены кишечного микробного сообщества, способные оказывать влияние на сенсорно-моторную функцию кишечника и индуцировать воспалительные процессы при производстве сероводорода (*Desulfovibrio*, *Bilophila*, *Escherichia*, *Akkermansia*, *Lawsonia*), бутирата (*Roseburia*, *Coprococcus*, *Faecalibacterium*, *Eubacterium*, *Clostridium*), пропионата (*Bacteroides*, *Akkermansia*, *Ruminococcus*, *Propionibacterium*, *Veillonella*) и ацетата (многие таксоны). По сравнению с показателями контрольной группы, у мышей с СРК отметили повышение численности таких КЖК-продуцентов, как *Bacteroides*, *Lactobacillus*, [*Ruminococcus*] и *Akkermansia*. У мышей с

СРК наблюдали увеличение содержания рода *Lawsonia* (7.81% от общего числа ОТЕ), по сравнению с показателем контрольной группы.

У мышей с СРК мы наблюдали увеличение численности рода *Akkermansia* в образцах слепой кишки: содержание *A. muciniphila* достигало значения 8.52% от числа всех идентифицированных последовательностей, что превышало аналогичный показатель в контрольной группе (1.27%). Эти бактерии, начинающие преобладать в микробиоценозе кишечника при антибиотикотерапии, могут провоцировать появление низкодифференцированного воспаления путем нарушения целостности слизистого слоя кишечника, что в дальнейшем может приводить к проникновению других патогенных видов в эпителиальную оболочку и повышать риск развития инфекционных осложнений при СРК.

Создание животных моделей, способных сочетать в себе сложность проявления мультифакторных нарушений при СРК, имеет важное значение для последующих доклинических исследований, и особенно для поиска успешных методов лечения СРК. При лабораторном моделировании синдрома раздраженного кишечника у мышей с помощью инъекций антибиотиков в их кишечном сообществе снижается биоразнообразие, общее количество облигатной микробиоты и соотношение фил *Firmicutes/Bacteroidetes* и возрастает содержание потенциально патогенных микроорганизмов, что позволяет предположить участие отдельных микробных агентов и их метаболитов в развитии заболевания.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Субъекта РФ Республики Татарстан в рамках научного проекта № 18-415-160005 р_а.