

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Казанский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,

кафедра микробиологии имени академика В.М.Аристовского

ФБУН Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора

**VII ЕЖЕГОДНАЯ ВСЕРОССИЙСКАЯ ЗАОЧНАЯ  
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ С  
МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ**

***Микробиология в  
современной медицине***

**СБОРНИК ТЕЗИСОВ**

**КАЗАНЬ, 27 ИЮНЯ 2019 ГОД**

УДК 579.61  
ББК 52.6  
М59

Организаторы 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, кафедра микробиологии имени академика В.М.Аристовского

Федеральное бюджетное учреждение науки «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора Российской Федерации

Редакционная коллегия:

Г.Ш. Исаева - доктор медицинских наук, профессор, и.о. заведующего кафедрой микробиологии имени академика В.М. Аристовского ФГБОУ ВО «Казанский ГМУ» Минздрава РФ, директор ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора РФ

А.Н. Савинова- кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии имени академика В.М. Аристовского ФГБОУ ВО «Казанский ГМУ» Минздрава РФ

Л.Т. Баязитова - кандидат медицинских наук, доцент кафедры микробиологии имени академика В.М. Аристовского ФГБОУ ВО «Казанский ГМУ» Минздрава РФ, в.н.с., заведующий лабораторией микробиологии ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора РФ

С.А. Лисовская- кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии имени академика В.М. Аристовского ФГБОУ ВО «Казанский ГМУ» Минздрава РФ, в.н.с. лаборатории микробиологии ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора РФ

П.Е. Гуляев – ассистент кафедры микробиологии имени академика В.М. Аристовского ФГБОУ ВО «Казанский ГМУ» Минздрава РФ

**Микробиология в современной медицине:** сборник тезисов VII ежегодной Всероссийской заочной научно-практической конференции с международным участием – Казань: КГМУ-КНИИЭМ, 2019 – 92с.

В сборнике тезисов представлены результаты научных трудов и практический опыт решения актуальных задач эпидемиологии, гигиены, профилактической медицины, практического здравоохранения и фундаментальных исследований с применением микробиологических методов. Тематика материалов охватывает результаты изучения влияния микроорганизмов на здоровье человека и компоненты внешней среды, оценки факторов риска биологического происхождения для населения Российской Федерации, стран СНГ и других стран мира. Материалы сборника содержат результаты последних достижений в области микробиологии по изучению возбудителей актуальных инфекций (ВИЧ, вирусные гепатиты, ОРВИ, туберкулез, болезнь Лайма, бруцеллез, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, хеликобактериоз, пневмококковая инфекция, ветряная оспа, токсоплазмоз, лямблиоз, микозы и т.д.), изучению антимикробной резистентности, микробиоты человека, поиску альтернативных противомикробных препаратов, применению нанотехнологий и другие исследования. Ряд материалов посвящен вопросам поиска эффективных методов микробиологической диагностики и профилактики инфекционных заболеваний.

Материалы сборника предназначены для преподавателей, научных сотрудников, врачей, биологов, а также специалистов смежных отраслей науки и практики, решающих задачи микробиологии, эпидемиологии, профилактической медицины и практического здравоохранения в сфере охраны здоровья населения.

## Оглавление

<i>Baktibayeva M.S., Kurmanbaeva A.B., Begali B.E., Aubakirov K.M., Akhmetzhanova E.B. ....</i>	<b>7</b>
THE ROLE OF ANTIGEN-PRESENTING CELLS IN TUBERCULOSIS	
<i>Baktibayeva M.S., Suinalin A.M., Baiseitova R.S., Sarsenbayev A.K., Mashurov A.S. ....</i>	<b>9</b>
TUBERCULOSIS AND PREGNANCY: WHAT'S NEW IN THE WORLD?	
<i>Baktibayeva M.S., Bayturova E.K., Tusupbekova M.E., Abzaliev B.K., Dakenov D.E. ....</i>	<b>10</b>
THE WORK OF COMPLEMENT SYSTEM IN TUBERCULOSIS	
<i>Chakarova B., Mladenova I., Grekova O., Dimov I. ....</i>	<b>12</b>
HELICOBACTER PYLORI, CRYPTOSPORIDIUM PARVUM, GIARDIA LAMBLIA AND ENTAMOEBAS HISTOLYTICA/DISPAR-AMONG RISK GROUPS IN BULGARIA	
<i>Chakarova B., Mladenova I., Brunkov A. ....</i>	<b>13</b>
TOXOPLASMA GONDII-INFECTION – PREVALENCE AND RISK FACTORS AMONG WOMEN OF CHILDBEARING AGE	
<i>Dusmagambetov M.U., Baktybayeva M.S., Tynybekova M.D. ....</i>	<b>14</b>
SURGICAL TREATMENT SPECIFICITIES OF AN ACUTE APPENDICITIS AT HIV-POSITIVE PATIENTS	
<i>Sohibnazarova X.A., Muminov M.I., Saidova I.M. ....</i>	<b>15</b>
STUDY ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF LACTOBACILLUS PLANTARUM MAL AGAINST S. AUREUS CLINICAL ISOLATES	
<i>Агафонова Е.В., Исаева Г.Ш., Велижнинская Т.А. ....</i>	<b>16</b>
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ ПРИ АТОПИЧЕСКОМ ДЕРМАТИТЕ У ДЕТЕЙ, АССОЦИИРОВАННЫМ С ИНФИЦИРОВАНИЕМ HELICOBACTER PYLORI И ХРОНИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ВЕРХНИХ ОТДЕЛОВ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА	
<i>Агафонова Е.В., Исаева Г.Ш., Крестникова Л.В. ....</i>	<b>17</b>
HELICOBACTER PYLORI ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ-РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ И ВЛИЯНИЕ НА МАРКЕРЫ АТОПИИ	
<i>Азимова Н.Ш., Каримов Х.Х., Тураева Б.И., Зухритдинова Н.Ю., Хамидова Х.М. ....</i>	<b>19</b>
ФЕРМЕНТАТИВНАЯ ОБРАБОТКА РАСТИТЕЛЬНЫХ ОТХОДОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ	
<i>Аккузина С.Г., Видякина Н.А., Медведева М.В. ....</i>	<b>20</b>
МУТАЦИИ SACCHAROMYCES CEREVISIAE, ВЫЗВАННЫЕ ФИЗИЧЕСКИМИ И ХИМИЧЕСКИМИ ФАКТОРАМИ	
<i>Арзамасцева А.А., Волкова А.С., Хуснутдинова Д.Р., Сакулин К.А., Карпухин О.Ю., Яруллина Д.Р. ....</i>	<b>21</b>
ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ТОЛСТОЙ КИШКИ ПАЦИЕНТОВ С ДЕКОМПЕНСИРОВАННЫМИ ФОРМАМИ ХРОНИЧЕСКОГО КОЛОСТАЗА	
<i>Бабушкина И.В., Бондаренко А.С., Шпиняк С.П., Ульянов В.Ю. ....</i>	<b>24</b>
ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНК ЭНТЕРОБАКТЕРИЯМИ ПРИ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЯХ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ КРУПНЫХ СУСТАВОВ	
<i>Батурлина С.Н., Нурпеисова А.Х., Плешков В.Ю., Махсудова Д.И. ....</i>	<b>27</b>

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЁЗА В ОМСКЕ И ОМСКОЙ ОБЛАСТИ НА ОСНОВАНИИ РЕТРОСПЕКТИВНЫХ ДАННЫХ ЗА 2008-2017 ГОДЫ	
<i>Баязитова Л.Т., Тюпкина О.Ф., Чазова Т.А., Мосихин С.Б., Целищева М.В., Сюзев К.Н.</i>	29
ОЦЕНКА АНТИСИНЕГНОЙНОЙ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИОФАГОВ	
<i>Баязитова Л.Т., Тюпкина О.Ф., Чазова Т.А., Тюрин Ю.А.</i>	31
О КОЛОНИЗАЦИИ КОНЪЮНКТИВАЛЬНОЙ ПОЛОСТИ <i>STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE</i> У ДЕТЕЙ С БЛЕФАРОКОНЪЮНКТИВИТАМИ	
<i>Гайнуллина Д.К., Абдрашитова А.Б.</i>	33
ОСОБЕННОСТИ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ПАЦИЕНТОВ С ОГРАНИЧЕННЫМИ ВОЗМОЖНОСТЯМИ	
<i>Гасич Е.Л., Еремин В.Ф., Гудель А.С., Бунас А.С.</i>	33
РАСПРОСТРАНЁННОСТЬ МУТАЦИЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ВИРУСА ГЕПАТИТА В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ	
<i>Дракина С.А., Залевская О.С., Щерба В.В., Анисько Л.А., Верещако Н.С., Вельгин С.О., Красько А.Г.</i>	35
ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИКВОРА У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ЛАЙМА С ПОРАЖЕНИЕМ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ	
<i>Дроница А.М., Гузовская Т.С., Самойлович Е.О.</i>	37
РАЗВИТИЕ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ВЕТРЯНОЙ ОСПЫ ВО ВРЕМЕНИ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ	
<i>Дусмагамбетов М.У., Амренова С.С., Мустафаева А., Нигай А.И.</i>	39
ЭПИДЕМИОЛОГИЯ И СПОСОБЫ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ВИЧ ИНФЕКЦИИ В РЕСПУБЛИКЕ КАЗАХСТАН. ВИЧ, «ПРИВЕЗЕННЫЙ» ИЗВНЕ	
<i>Жданова Н.Ю., Богачева Н.В.</i>	41
ОЦЕНКА ОСТРОЙ И ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА <i>CLOSTRIDIUM</i> НА МОДЕЛИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ	
<i>Зайнитдинова Л.И., Вохидова Н., Куканова С.И., Жураева Р.Н., Лобанова И.В.</i>	43
АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ БИОГЕННЫХ НАНОЧАСТИЦ	
<i>Зарипова А.З., Баязитова Л.Т., Тюпкина О.Ф., Чазова Т.А., Тюрин Ю.А., Исаева Г.Ш.</i>	45
РЕЗУЛЬТАТЫ МОНИТОРИНГА АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ <i>STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE</i> , ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ДЕТЕЙ-НОСИТЕЛЕЙ	
<i>Кабанов Д.А., Абасева И.С., Марданова А.М.</i>	47
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФАКТОРОВ ВИРУЛЕНТНОСТИ НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ИЗОЛЯТОВ <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i>	
<i>Каримова Ф.А., Абдульмянова Л.И., Гулямова Т.Г.</i>	50
БЕСКЛЕТОЧНЫЙ СИНТЕЗ ПОРФИРИНОВ АКТИНОМИЦЕТОМ <i>STREPTOVERTICILLIUM SP.</i>	
<i>Колеватых Е.П., Зайцева И.В., Махнева Ю.А.</i>	51
ОЦЕНКА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МАКРООРГАНИЗМА ПРИ УПОТРЕБЛЕНИИ МЕТАБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ	
<i>Куликов С.Н., Тюрин Ю.А., Григорьева Т.А., Хайруллин Р.З.</i>	54

ПОЛИМЕРНЫЕ МАТРИЦЫ В СОРБЦИИ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ И ОПРЕДЕЛЕНИИ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ	
<i>Кулонов А.И., Тонких А.К., Мавжудова А.М., Мирзарахметова Д.Т.</i>	57
МИКРООРГАНИЗМЫ ГИПЕРСОЛЁНЫХ ОЗЁР УЗБЕКИСТАНА И ИХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ	
<i>Кутлиева Г.Д., Нурмухамедова Д.К., Камалова Х. Ф., Наврузов С.Н.</i>	58
О КРАЙНЕЙ НЕОБХОДИМОСТИ КОРРЕКЦИИ ДИСБИОТИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ	58
<i>Кутлиева Г.Дж., Элова Н.А., Пазылова Д.У., Нурмухамедова Д.</i>	59
АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ МЕСТНЫХ ШТАММОВ ЛАКТОБАЦИЛЛ ПРОТИВ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ, ИНИЦИИРУЮЩИХ ЯЗВЕННЫЙ КОЛИТ У ЛЮДЕЙ	
<i>Лисовская С.А., Глушко Н.И., Халдеева Е.В.</i>	60
ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ ШТАММОВ CANDIDA ALBICANS В МИКРОБНЫХ КОНСОЦИУМАХ С МИЦЕЛИАЛЬНЫМИ ГРИБАМИ	
<i>Мананова Э.Р., Фазылов В.Х.</i>	61
СИФИЛИС У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ	
<i>Маруф Р.С., Тошева З.С., Марданова А.М.</i>	63
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СПОСОБНОСТИ ШТАММОВ <i>M. MORGANII</i> К АГГЛЮТИНАЦИИ ДРОЖЖЕЙ	
<i>Мухаммедов И.И., Рузиева Д.М., Насметова С.М., Расулова Г.А., Гулямова Т.Г.</i>	65
ВЛИЯНИЕ ИСТОЧНИКОВ УГЛЕРОДА НА УРОВЕНЬ ИНГИБИРОВАНИЯ $\alpha$ – АМИЛАЗЫ ЭНДОФИТНЫМИ МИКРОМИЦЕТАМИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ УЗБЕКИСТАНА	
<i>Патяшина М.А., Авдонина Л.Г., Гараева Л.Т., Хайруллин Р.Х.</i>	66
ОБЕСПЕЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ НАСЕЛЕНИЯ	
<i>Растатурина Л.Н.</i>	68
ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ВОЗДУШНОЙ СРЕДЫ НА УСЛОВИЯ ОБУЧЕНИЯ СТУДЕНТОВ В ВУЗЕ	
<i>Савинова А.Н.</i>	69
РОЛЬ КОРИНЕФОРМНЫХ БАКТЕРИЙ В РАЗВИТИИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА	
<i>Савинова А.Н.</i>	70
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКИ ГЕМОФИЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ ТИПА В	
<i>Савицкая Т.А., Серова И.В., Трифонов В.А.</i>	72
ВИДОВОЙ СОСТАВ И ИНФИЦИРОВАННОСТЬ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ НОСИТЕЛЕЙ И ПЕРЕНОСЧИКОВ ГЛПС В ПРИВОЛЖСКОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ	
<i>Савицкая Т.А., Трифонов В.А., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д.</i>	73
СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ЛЕПТОСПИРОЗА В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН	
<i>Смирнов А.А., Богачева Н.В.</i>	74

ОЦЕНКА ИНДУЦИРОВАННОГО ДЕКСАМЕТАЗОНОМ СОСТОЯНИЯ ИММУНОСУПРЕССИИ В ОРГАНИЗМЕ НЕЛИНЕЙНЫХ МЫШЕЙ	
<i>Соковнина С.В., Мосеева М.В., Мельчукова З.А.</i>	76
ОБСЕМЕНЕННОСТЬ ЗУБНОГО НАЛЕТА У ДЕТЕЙ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ ШКОЛЫ- ИНТЕРНАТА С НАРУШЕНИЯМИ СЛУХА И РЕЧИ	
<i>Тухватуллина Л.Р.</i>	78
ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ РИСКИ ПРИ УПОТРЕБЛЕНИИ ФАСТ-ФУДА	
<i>Тюрин Ю.А., Исаева Г.Ш.</i>	79
ИЗУЧЕНИЕ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ К КОНСЕРВАТИВНЫМ ЭПИТОПАМ СТАФИЛОКОККОВОГО ЭНТЕРОТОКСИНА А (SEA) У БОЛЬНЫХ С АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ	
<i>Фазылов В.Х., Дроздова Н.Ф., Гарипова И.Д.</i>	81
ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ ОСОБЕННОСТЬ ТОНЗИЛЛИТОВ ПРИ ИНФЕКЦИОННОМ МОНОНУКЛЕОЗЕ, ВЫЗВАННОМ ВИРУСОМ ЭПШТЕЙНА-БАРР	
<i>Халдеева Е.В., Лисовская С.А., Глушко Н.И.</i>	84
АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ ВСТРЕЧАЕМОСТИ CANDIDA ALBICANS У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ГЛОТКИ	
<i>Хохлова О.Е., Акушева Д.Н., Ивао Я., Камшилова В.В., Перьянова О.В., Мотова А.И., Котловский Ю.В., Оседко О.Я., Ямамото Т.</i>	85
ВЫЯВЛЕНИЕ РОЛИ МЕТИЦИЛЛИНРЕЗИСТЕНТНЫХ S. AUREUS В РАЗВИТИИ НОЗОКОМИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ	
<i>Шуманская С.Ю., Дронина А.М., Фомина Е.Г., Григорьева Е.Е., Гузовская Т.С., Семижон О.А.</i>	87
ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЯМБЛИОЗА У ДЕТЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ С 2007 ПО 2018 ГОДЫ	
<i>Юзлибаева Л.Р., Патяшина М.А., Авдонина Л.Г.</i>	90
ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКИХ МЕРОПРИЯТИЙ В СЕЗОН ГРИППА И ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ	
<i>Юсупов У.К., Шухратова М.Л., Абдульмянова Л.И.</i>	91
АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ЭНДОФИТНЫХ ГРИБОВ ГАРМАЛЫ И САКСАУЛА	

# THE ROLE OF ANTIGEN-PRESENTING CELLS IN TUBERCULOSIS

*M.S.Baktibayeva, A.B.Kurmanbaeva, B.E.Begali, K.M.Aubakirov, E.B.Akhmetzhanova*

NJSC "Astana medical university", Nur-Sultan, Kazakhstan

Tuberculosis (TB) remains one of the greatest threats to human health. The causative bacterium, *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) is acquired by the respiratory route. Lung alveolar macrophages (AMs) are in the first line of immune defense against respiratory pathogens and play key roles in the pathogenesis of *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) in humans. While dendritic cells also take part in the phagocytic process.

*M. tuberculosis* infection is transmitted via aerosol route. Once the pathogen enters the respiratory track, it is finally engulfed by the alveolar macrophages of lung through surface receptors. A number of studies reveal that complement receptors and complement-mediated opsonization are majorly involved in the entry of *M. tuberculosis* inside the macrophages. One of the most important receptors for mycobacteria is complement receptor 3 (CR3), while other receptors such as CR1 and CR4, mannose receptor, surfactant protein A receptor, CD14, Fc $\gamma$  receptor, scavenger receptors, etc., have also been implicated in phagocytosis and internalization of the bacteria inside the macrophages [2-4]. An important role of toll-receptors, mainly the TLR2, has been demonstrated for the attachment of mycobacteria to macrophages [5]. After binding, the bacteria are internalized and engulfed into phagosomes, where they can be killed by several defense mechanisms [6]. After the first contact of *M. tuberculosis* with alveolar macrophages, generally a robust proinflammatory immune response is induced that confers protection against the bacilli [7]. Following intracellular infection, adaptive immunity is generated against the invading pathogen via activation of CD4 $^{+}$  T cells and CD8 $^{+}$  T cells. The bacilli are found to inhibit the class I, class II, and cross presentation of mycobacterial antigen to T cells, thus avoiding immune recognition by T cells. At the site of infection, proinflammatory IFNs and cytokines are secreted, which help in the recruitment of CD4 $^{+}$  T cells, CD8 $^{+}$  T cells, natural killer T cells, and neutrophils [8]. After establishing the infection, the *M. tuberculosis* antigens move with the help of alveolar dendritic cells to the draining lymph node, which leads to the stimulation of naive CD4 $^{+}$  T cells [9]. The inhibitory effect of stimulated Th1- type CD4 $^{+}$  T cells is by the production proinflammatory cytokines such as IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$ , which inhibit bacillary growth [10]. In comparison, when stimulated in the context of MHC class II, Th2-type CD4 $^{+}$  T cells proliferate and produce anti-inflammatory cytokines such as IL-4, IL-5, and IL-10, which are favorable for the bacilli to establish a productive infection [8, 10]. Many studies indicate that *M. tuberculosis* bacilli suppress the pro-inflammatory cytokines such as IL-12 and IFN- $\gamma$  and activate production of anti-inflammatory cytokines like IL-10 to skew the anti- mycobacterial immune response from a protective Th1 to a non-protective Th2-type [2-5].

**Formation of granuloma.** *M. tuberculosis* infection of alveolar macrophages leads to the activation of alveolar dendritic cells which migrate to lymph nodes. In the lymph nodes, CD4 $^{+}$  T cells, CD8 $^{+}$  T cells, and  $\gamma\delta$  T cells proliferate in response to activation by the alveolar dendritic cells. At the site of infection, the resulting immune activation leads to a microenvironment of cytokines and chemokines which induces the expression of integrins, selectins, and addressins on the surfaces of lymphocytes and endothelial cells. This facilitates a mass migration of immune cells resulting in the formation of a focus of immune cells called “tubercle” or granuloma around the primary site of infection. Macrophages and giant nucleated epithelioid cells form layers around the granuloma. The granuloma is formed by the immune system to contain *M. tuberculosis* to the site of infection and not allowing its spread to other normal tissues. The latent infection may persist and remain dormant for life time without proceeding to diseased condition [3].

After phagocytosis, *M. tuberculosis* bacteria reside inside the endosomes of the macrophages. Normally, endosome fuses with lysosome to degrade the pathogens, but *M. tuberculosis* bacteria are capable of inhibiting the process of phagosome maturation, as a result of which acidification of phagosome is compromised. The intracellular survival and persistence of the tubercle bacilli rests upon its ability to prevent phagosome-lysosome fusion, thus avoiding degradation, antigen processing, and cidal

properties of the phagolysosome. Lipoarabinomannan capped with man- nose (Man-LAM), a cell wall component of *M. tuberculosis* and SapM, a phosphatidylinositol 3- phosphate (PI3P) phosphatase secreted by the bacilli, are found to interfere with phosphoinositide metabolism of macrophages by depleting PI3P in phagosome [4]. The latter is used as a docking molecule by peripheral proteins of lysosomes [5]. *M. tuberculosis* also possess protein phosphatases (Ptp A and B) that may interfere with host trafficking process possibly by modulating vacuolar sorting proteins [6].

The transport of *M. tuberculosis* containing vacuoles to lysosomes is mediated by a class of GTPases called Rab GTPases. A recent study has also shown that the *M. tuberculosis* secretory proteins, ESAT-6 and CFP-10 encoded by RD1 region play crucial roles in preventing phagolysosomal fusion [5]. Blockade of Ca<sup>2+</sup>/calmodulin pathway by *M. tuberculosis* is also found to be one of the ways to block phagosomal maturation [7].

**Autophagy.** Autophagy (also called xenophagy) is an evolutionary conserved basic homeostatic mechanism of a cell to digest intracellular organelles and large protein aggregates that are difficult to digest by normal proteasomal pathway. The engagement of TLRs with mycobacterial ligands induces autophagy using both MyD88-dependent and TRIF-dependent pathways [3, 8]. This suggests that autophagy is an effector of innate immune response. The IFN- $\gamma$  induces IRG proteins that are mainly involved in induction of autophagy and elimination of *M. tuberculosis* bacilli [4] and polymorphism at IRG locus is shown to be associated with resistance to *M. tuberculosis* [9]. Many autophagy-associated proteins are shown to be involved in phagosome-lysosome fusion process [6].

**Apoptosis.** Macrophages use apoptosis as an effector mechanism to eliminate *M. tuberculosis* and to constrain the spreading of infection [7]. The apoptotic vesicles are readily engulfed by the neighboring dendritic cells. The dendritic cells in turn activate CD8<sup>+</sup> T cells by cross-presenting the processed antigens in the context of MHC class I. This results in an effective immune response against the bacilli. Necrosis, however, is favorable for the dissemination of bacteria and spread of infection [8].

The other mechanism by which *M. tuberculosis* could possibly inhibit apoptotic process is via the *nuoG* gene, which can neutralize the NOX-2-mediated increase in ROS and TNF- $\alpha$  production in phagosomes containing *M. tuberculosis* thereby inhibiting apoptosis [9]. Also, *secA2* and *pknE* play roles in resistance against apoptosis as mutants of these genes induce more apoptosis in macrophages as compared to the wild-type *M. tuberculosis* strains [10].

**Conclusion.** Our current understanding of the role of macrophages in TB clearly demonstrates the central role these cells play both in the host protective immune response and control of infection, and in the maintenance of chronic infection and its associated tissue damage and pathology. As we gain more knowledge about macrophage responses in the context of organ-specific microenvironments, our understanding of the molecular details underlying the pivotal MTB-macrophage interactions that occur during TB infection will become more defined.

## References

1. Festjens N, Bogaert P, Batni A, Vanderschaeghe D, et al. Disruption of the SapM locus in *Mycobacterium bovis* BCG improves its protective efficacy as a vaccine against *M. tuberculosis*. *EMBO Molecular Medicine*. 2011;3(4):222-234
2. Jozefowski S, Sobota A, Kwiatkowska K. How *Mycobacterium tuberculosis* subverts host immune responses. *BioEssays*. 2008;30(10):943-954
3. Grundner C, Ng HL, Alber T. *Mycobacterium tuberculosis* protein tyrosine phosphatase PtpB structure reveals a diverged fold and a buried active site. *Structure*. 2005;13(11): 1625-1634
4. Tan T, Lee WL, Alexander DC, Grinstein S, Liu J. The ESAT-6/CFP-10 secretion system of *Mycobacterium marinum* modulates phagosome maturation. *Cellular Microbiology*. 2006; 8(9):1417-1429
5. Vergne I, Chua J. Cell biology of *Mycobacterium tuberculosis* phagosome. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 2004;20:367-394
6. Deretic V. Autophagy in immunity and cell-autonomous defense against intracellular microbes. *Immunological Reviews*. 2011;240(1):92-104
7. Harris J, Hope J, Lavelle E. Autophagy and the immune response to TB. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2009;56(6–7):248-254



8. Singh SB, Davis AS, Taylor GA, Deretic V. Human IRGM induces autophagy to eliminate intracellular mycobacteria. *Science*. 2006;313(5792):1438-1441
9. King KY, et al. Polymorphic allele of human IRGM1 is associated with susceptibility to tuberculosis in African Americans. *PLoS One*. 2011;6(1):e16317
10. Levine B, Mizushima N, Virgin HW. Autophagy in immunity and inflammation. *Nature*. 2011;469(7330):323-335

## TUBERCULOSIS AND PREGNANCY: WHAT'S NEW IN THE WORLD?

*M.S.Baktibayeva, A.M.Suinalin, R.S.Baiseitova, A.K.Sarsenbayev, A.S.Mashurov*

NJSC "Astana medical university", Nur-Sultan, Kazakhstan

**Relevance.** Unfortunately, recently the situation with tuberculosis has remained tense. Often this applies to pregnant women. Knowledge of the characteristics of the combination of tuberculosis and pregnancy is of great importance for the prevention of possible complications, preserving the health of the mother and the future baby. Many authors point to the occurrence of obstetric complications in women with active tuberculosis. However, tuberculosis is not currently a harsh sentence. Modern achievements of medicine make it possible to bear and give birth to a healthy child. If the pregnancy has occurred, then the decision on the question of preservation lies on both the pregnant woman and the attending physician. Possibilities of carrying and maintaining pregnancy should be considered at the level of medical indicators.

This is also possible for women of reproductive age who are preparing to become mothers. Intensification of the infection, which has been dormant for a long time in the body, is formed with a significant suppression of immunity, against the background of constant stress and a decrease in the general social standard of living.

Women during pregnancy, along with other persons due to the peculiarities of immunity, belong to a high risk group. Often the infection is combined with various dangerous infections - hepatitis, syphilis, especially among asocial elements.

Studies of the human genetic structure revealed that susceptibility to the pathogen (*Mycobacterium tuberculosis*) of tuberculosis is associated with the alleles of the human leukocyte antigen HLA — A11\*B12 and HLA\*DR2, as well as with some phenotypes of genetically determined whey proteins, for example, haptoglobin and protease inhibitor. There is reason to believe that with the expansion of the scope of genetic research in medical practice, this important information will be taken into account when forming risk groups for tuberculosis [1].

In 2018, 5 pregnant women and 33 women in the postpartum period (a total of 38 women who became ill against 44 patients in 2017) became sick with tuberculosis, and 22 children were ill with tuberculosis among children under 14 years old, 9 of them are pre-school age. [2]

If tuberculosis does not have an aggressive and life-threatening course, in which immediate delivery or termination of pregnancy is vital for life reasons, it can still significantly harm the pregnancy. Against the background of an active tuberculous process, such complications arise as:

- early-term toxicosis with severe nausea and malaise;
- weight loss;
- severe anemia with poor treatment prognosis;
- gestosis of the second half of pregnancy (a complication of a normal pregnancy, which may not manifest itself, or manifest as edema, increased pressure, loss of protein with urine, convulsions (eclampsia) [2]);
- acute and chronic placental insufficiency;
- condition of chronic fetal hypoxia;
- delay in prenatal development of the baby in growth and weight gain;
- problems with the volume and composition of amniotic fluid;
- premature termination of pregnancy (miscarriages, spontaneous abortions);

- death of a newborn or fetus.

Timing of Immune Responses and Granuloma Formation. Following the establishment of *M. tuberculosis* infection in the airways and lung parenchyma, the bacilli (bacteria) are believed to be phagocytosed by the macrophages in the alveoli and are taken up by neutrophils and dendritic cells. After some time, cells progressively assemble in a compact, organized aggregate of mature macrophages surrounded by fibroblasts and interspersed with neutrophils, dendritic cells, Natural Killer cells, B cells, CD4+ and CD8+ T cells. This structure is a granuloma represents a concentrated effort of the immune system to sequester, wall off and eradicate *M. tuberculosis*. Recent evidences have however subverted the classic view that the granuloma is a host-protective structure. In addition, different stages of the immune response to *M. tuberculosis* can be recognized, and granulomas are dynamic structures that are initially exploited by the bacterium to subvert the immune response, replicate and spread at other locations [3].

The central place in the mechanism of tuberculosis immunity and specific tuberculous inflammation belongs to the cellular element of the immune system with the development of delayed-type hypersensitivity (GST) or tuberculin allergy. The main actors of the immunity are:

- T-lymphocytes-helper type 1 (Th1) or CD4;
- Macrophages;
- Dendritic cells (when the antigen enters through the skin - Langerhans cells);
- Cytokines (interleukin-2, interferon-gamma, tumor necrosis factor, lymphotoxin, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, etc.) [4].

**Conclusion.** In conclusion, the consequences of tuberculosis in pregnant women can lead to serious consequences for the patients themselves and their fetuses, as this is due to the teratogenic effects of the drugs during treatment, which can lead to genetic changes and fetal tuberculosis infection, as well as congenital deformity. In addition to the course of the disease, a pregnant woman has a high risk of miscarriage or spontaneous abortion. Also, after childbirth, a woman in labor can have complications in the transition from pulmonary to extrapulmonary tuberculosis.

## References

1. Perelman M.N., Koryakin V.A., Bogadelnik I.V. Phthisiatry textbook-3rd edition, Publisher Medicine 2004
2. Kayukova S.I., Komissarova OG, Karpina N.L., Romanov V.V., Uvarova E.V., Limarova I.V. Conducting pregnancy, childbirth and the postpartum period in a patient with drug-resistant, destructive pulmonary tuberculosis after a staged surgical treatment. Tuberculosis and lung disease. 2018; 96 (6): 58-63
3. Recommendation of the Expert Council of RSE on REU "Republican Center for Health Development" of the Ministry of Health and Social Development of the Republic of Kazakhstan dated September 15, 2015 Protocol No. 9
4. Tuberculous meningoencephalitis associated with brain tuberculomas during pregnancy: a case report. Sadie Namani, Shemsedin Dreshaj and Arieta Zogaj Berisha

## THE WORK OF COMPLEMENT SYSTEM IN TUBERCULOSIS

*M.S.Baktibayeva, E.K.Bayturova, M.E.Tusupbekova, B.K.Abzaliev, D.E.Dakenov*

NJSC "Astana medical university", Nur-Sultan, Kazakhstan

Tuberculosis— one of the oldest and one of the major causes of mortality human diseases, since two million people die each year from this malady. TB has many manifestations, affecting bone, the central nervous system, and many other organ systems, but it is primarily a pulmonary disease that is initiated by the deposition of *Mycobacterium tuberculosis*, contained in aerosol droplets, onto lung alveolar surfaces. From this point, the progression of the disease can have several outcomes, determined largely by the response of the host immune system. The efficacy of this response is affected by intrinsic factors such as the genetics of the immune system as well as extrinsic factors, e.g., insults to the immune

system and the nutritional and physiological state of the host. Complement system comprises a network of more than 30 proteins, belonging to both innate and adaptive arms of the immune system. *M. tuberculosis* can bind to complement receptors via both complement-dependent and independent pathways. Complement component C3 identified as the major component in human serum is involved in enhancing the adherence and uptake of *M. tuberculosis* by mononuclear phagocytes. This review focuses mainly on the interaction of complement system and mycobacteria [1].

Tuberculosis (TB) is a major global health problem. One third of the world's population is infected with *Mycobacterium tuberculosis*. It is estimated that 9 million new cases of TB and 1.4 million people died of TB. Geographically, the burden of TB is higher in Asia and Africa. India and China together account for almost 40% of the world's TB cases. *Mycobacterium* has the ability to enter a number of different cell types, but the macrophage is its primary host cell and survives and replicates inside these cells. They provide a first line of defence by phagocytosing microbes that enter the body. In addition to this key role in innate immunity, macrophages are also involved in the induction and regulation of adaptive immune response. The complement system, a key component of innate immunity, is a group of serum and membrane-bound proteins and glycoproteins that participate in various aspects of the immune defence of the host [2]. The interaction between the macrophage and mycobacteria is mediated by a variety of macrophage receptors. Mycobacteria can bind to the macrophage receptor through both complement-dependent and -independent pathways. In addition to complement receptors, there are other receptors involved in the adherence of *M. tuberculosis* to macrophages, such as mannose receptors, class A scavenger receptor, surfactant protein A receptor and CD14 receptor [3]. The interaction of mycobacteria with macrophages represents an ideal opportunity for unraveling microbiological as well as host-cell biological mechanisms. In studying the interaction of mycobacteria with their host cells, it should be realized that mycobacteria have developed strategies to circumvent the normal trafficking routes in macrophages in order to increase their chances of survival by manipulating the normal host cell biology. This review focuses mainly on the interaction of complement system and mycobacteria.

The interaction between macrophage and mycobacteria is mediated by a variety of macrophage receptors. The complement system is composed of a group of serum proteins and their corresponding receptors are located on the surface of phagocytes. *M. tuberculosis* can bind several types of receptors on the surface of phagocytes. Complement receptor type 1 (CR1 or CD35) is a type 1 transmembrane glycoprotein of 220 kDa that contains 30 ScRs and is present on a wide variety of cells. CR1 is present in four different allotypes with different molecular masses of 160 kDa (A form), 190 kDa (B form), 220 kDa (C form) and 250 kDa (D form) [4]. It functions mainly as a receptor for C3b and C4b, but not C3bi. CR1 primarily functions in particle adherence rather than internalization. CR1 possesses complement regulatory activity and can mediate phagocytosis of opsonized particles. CR1 protein carries the Knops blood group antigens and is the receptor for the major ligand involved in *M. tuberculosis* adhesion to macrophages. Erythrocyte CR1 binds immune complexes (ICs) formed during *M. tuberculosis* invasion, facilitating their clearance by the host immune system. Complement receptor type 2 (CR2 or CD21) is a 140 kDa membrane glycoprotein that binds to C3bi, C3dg and C3d fragment of C3. CR2 is implicated in the regulation of B-cell response and is involved in antibody response to T cell-dependent and -independent antigens. The complement receptor type 3 (CR3 or CD11b/CD18) with a 170 kDa  $\alpha$  chain and a 95 kDa  $\beta$  chain and the complement receptor type 4 (CR4 or CD11c/CD18) are adhesion molecules of leukocyte integrin family. CR3 and CR4 are both integrin heterodimers and have the same  $\beta$  chain, but different  $\alpha$  chain. To date, CR3 has been the most widely studied receptor. CR3 mediates opsonization and phagocytosis of microorganisms. The two types of opsonic phagocytosis have been defined depending on the receptor engaged. Fc gamma receptor mediates type I phagocytosis of IgG-coated particles, CR3 mediates type II phagocytosis of complement-coated particles. Therefore, CR3 mediates type I phagocytosis under nonopsonic conditions and type II under opsonic conditions. CR3 mediates both types of phagocytosis depending on the ligand used. CR3 and CR4 share considerable similarity at the amino acid levels and interact with the same ligand iC3b. Although CR3 binds to iC3b only, CR4 also interacts with C3d and C3dg; together with LFA-1, CR3 and CR4 form part of a super gene family of glycoproteins (integrins) that serve as receptors for adhesion molecules. In contrast, CR4 is minimally involved in uptake of *M. tuberculosis* by monocytes compared with CR1 and CR3. The physiological role of CR4 is not clear, but its properties may be similar to those of CR3. During maturation of blood

monocyte to alveolar macrophages, expression of CR3 decreases while that of CR4 increases. *M. tuberculosis* can activate the alternative pathway of complement activation, resulting in opsonization with C3b and C3bi. Complement receptors interact with C3 deposited on *M. tuberculosis*, through the alternative complement pathway. Pathogenic mycobacteria (*M. avium*) uniquely recruit the complement fragment C2a to form a C3 convertase and generate opsonically active C3b in the absence of early activation of alternative or classical pathway [5, 6]. In addition to complement receptors, there are other receptors involved in the adherence of *M. tuberculosis* to macrophages, such as mannose receptor, class A scavenger receptors, surfactant protein A receptor, Fc receptor and CD14. Hence, *M. tuberculosis* displays numerous and diverse ligands on its surface and is likely to engage multiple receptors simultaneously. The diverse array of receptors that could be utilized by mycobacteria to interact with and to enter host cells makes it unlikely that there is one 'preferred route' [5].

Complement is one of the important effector and regulatory systems of innate as well as adaptive immunity to enhance host defence. Mycobacteria have developed a large number of mechanisms to enter macrophages. Thus, complement opsonization of mycobacteria likely plays a critically important role in the first encounter of the microbe with the host. The interaction between mycobacteria and macrophage lineage lies at the centre of the host immune response and determines whether the survival, multiplication or cytostasis of these intracellular pathogens is achieved. Mycobacterial evasion of the host immune response includes inhibition of infected cell and resistance to the anti-microbial strategies of macrophages. This ability to survive within macrophage has been recognized for a long time [6]. However, the molecular mechanisms underlying the resistance towards degradation have been poorly understood. The initial interaction on macrophage and mycobacteria will help delineate the contribution of this early host–pathogen interaction to the pathogenesis of tuberculosis.

## References

1. World Health Organization: Global tuberculosis control: epidemiology, strategy, financing, Geneva, Switzerland, (2012).
2. Welsh K. J., Lewis C. T., Boyd S., Braun M. C and Actor J. K., Complement Factor C7 contributes to lung immunopathology caused by *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Dev Immunol*, 10: 1-7, (2012).
3. Walport M. J., Complement. First of two parts. *N Engl J Med*, 344: 1058–1066, (2001).
4. Carroll M. V., Lack N., Sim E., Krarup A and Sim R. B., Multiple routes of complement activation by *Mycobacterium bovis* BCG. *Mol Immunol*, 46: 3367-3378, (2009).
5. Walport M. J., Complement. Second of two parts. *N Engl J Med*, 344: 1140–1144, (2001).
6. Muller-Eberhard H. J., Molecular organization and function of the complement system. *Annu Rev Biochem*, 57: 321-347, (1998).

## ***HELICOBACTER PYLORI, CRYPTOSPORIDIUM PARVUM, GIARDIA LAMBLIA AND ENTAMOEBA HISTOLYTICA/DISPAR-AMONG RISK GROUPS IN BULGARIA***

*B. Chakarova<sup>1</sup>, I. Mladenova<sup>2</sup>, O. Grekova<sup>2</sup>, I. Dimov<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Department of Microbiology and Parasitology, Faculty of Medicine, Trakia University - Stara Zagora, Bulgaria,

<sup>2</sup>Department of Hygiene, Epidemiology and Infectious Diseases, Faculty of Medicine, Trakia University - Stara Zagora, Bulgaria,

<sup>3</sup>Department of Anatomy, St. Petersburg Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia

The aim of the study was to perform screening coprodiagnostics among persons in risk groups, using morphological and immunological tests. In total 81 persons divided into four groups have been investigated for *Helicobacter pylori* infection: (1) operated patients with gastric carcinoma receiving immunosuppressive chemotherapy, n=15; (2) their first degree relatives who are positive for *H. pylori* antigen, n=25; (3) first degree relatives who are negative for *H. pylori*, n=25; (4) control group, n=16.

Morphological and immunochromatographic rapid assay for the qualitative determination of *Cryptosporidium parvum*, and/or *Giardia lamblia* and/or *Entamoeba histolytica/dispar* in stool samples.

From investigated, 14 (17.3%) are positive for enteroparasites. Coproantigens of *C. parvum* have been found in 2 (2.47%) patients, *G. lamblia* – in 8 (9.88%), *E. histolytica/dispar* – in 1 (1.23%). In 3 (3.70%) samples by morphological tests, were identified *B. hominis* cyst, but not cysts or trophozoites of other enteroparasites. In the relatives, infected with *H. pylori* is the highest proportion of enteroparasites-positive patients– 9 (36.0%). In the *H. pylori*-negative relatives, one was a carrier of *B. hominis*. The highest is the proportion of individuals infected with *G. intestinalis* – 10.0% of the *H. pylori*-positive relatives, and the smallest - with *E. histolytica/dispar* - 1.25%. From the operated patients *H. pylori* – positive are 9 (60.00%). None of them is positive for enteroparasites, and one that is negative for *H. pylori* is positive for *B. hominis*. In immunocompromised patients, there was no evidence of clinically acute cryptosporidiosis, and no coproantigens were found for *C. parvum*.

Parallel carrying out two diagnostic methods - morphological and immunological - leads to optimization of identification of enteroparasites. Rapid immunochromatographic tests have a higher diagnostic ability, and a small amount of antigen can be detected in the sample, but they are susceptible only to a certain set of parasitic agents. In this regard morphodiagnostic possibilities of light microscopy are higher- it is possible to see also other parasites.

## **TOXOPLASMA GONDII-INFECTION – PREVALENCE AND RISK FACTORS AMONG WOMEN OF CHILDBEARING AGE**

*B. Chakarova<sup>1</sup>, I. Mladenova<sup>2</sup>, A. Brunkov<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Department of Microbiology and Parasitology, Faculty of Medicine, Trakia University - Stara Zagora, Bulgaria,

<sup>2</sup>Department of Hygiene, Epidemiology and Infectious Diseases, Faculty of Medicine, Trakia University - Stara Zagora, Bulgaria

Toxoplasmosis has an important place in human medicine as it occurs with abortions, severe damage to the fetus and in patients with immunosuppression.

**Aim** of the study was to establish the prevalence and determine some of the risk factors for *T. gondii*-infection among women of childbearing age in the Stara Zagora region, Bulgaria.

**Methods:** We conducted a case-control study of women aged between 15 and 49 attending an ambulatory office for parasitic diseases in Stara Zagora city, Bulgaria. The case group was pregnant women and the control group - women who did not report pregnancy, at the time of the study. Women were tested for toxoplasmosis by ELISA IgM and IgG and filled a questionnaire.

**Results:** From studied 244 women, 118 (48.36%) were pregnant and 126 (51.64%) – did not report pregnancy. A 100 of all (40.98%) were seronegative and 144 (59.02%) - seropositive for *T. gondii*. 69 (58.47%) of the pregnant women had antibodies against *T. gondii*, while 75 (59.52%) of the non-pregnant women. The proportion of seropositive women reaches a peak around the age of 31-34 years. Acute toxoplasmosis was recognised in 4 (1.64%) non-pregnant women and in one (1.45%) pregnant woman. Most common risk factor amongst seropositive women ( $p < 0.05$ ) are as follows: feeding cats with uncooked meat, consuming uncooked meat, contact with soil, eating fruits and vegetables from bio-farms, homemade meat canned foods. The largest relative share of seropositive women was with the accumulation of one, three, four and six risk factors.

**Conclusion:** The women of childbearing age in the Stara Zagora region, Bulgaria in their daily life have hazardous practices leading to *T. gondii*-infection. Despite the established good immune status regarding to *Toxoplasma gondii*, there is an actual risk of congenital toxoplasmosis.

## **SURGICAL TREATMENT SPECIFICITIES OF AN ACUTE APPENDICITIS AT HIV-POSITIVE PATIENTS**

*M.U.Dusmagambetov, M.S.Baktybayeva, M.D. Tynybekova*

NJSC “Astana medical university”, Nur-Sultan, Kazakhstan

The syndrome called the human immunodeficiency virus (HIV) was described in 1981, USA. In the period of 1984-1985 there was identified the main feature of the human immunodeficiency virus. Scientists generally identified that the strains of HIV are most closely related to the simian immunodeficiency viruses (SIVs) endemic in wild ape populations of West Central African forests. In particular, each of the known HIV strains is either closely related to the SIV that infects the chimpanzee populations living in Cameroon.

Nowadays it is believed that the human immunodeficiency virus (HIV) is one of most progressing and dangerous disease in the world. And all of us know that HIV-positive patients have an equal rights for taking different types of emergency operations such as appendectomy, splenectomy and etc. In this article you can get information particularly about appendectomy in HIV-positive patients because according to the statistics, this procedure has the smallest number of operational complications, and it will help us to identify the postoperative complications in comparing of 2 types of patients.

In general, healthy patients do not have any complications on the operational procedure except of Infection at the surgical sites. The main problems are appeared in postoperative period. There are complications such as appendicular infiltration, abdominal abscesses and purulent peritonitis.

And as you can see from the Table 1, the HIV-positive patients have the same postoperative problems. However there are some differences in having complications like that which is depends on the HIV-infection's stage. By Russian classification there are 4 stages of HIV: IIA, IIB, IIIA, IIIB.

Patients at late stages of HIV infection (IIIA and IIIB) (before operation) in comparison with other groups had expressed changes in composition of peripheral blood (anemia, a leukopenia, a lymphocytopenia). Showed blood coags in all studied groups didn't change both to, and after operation. The changes in a coags such as decreasing in a fibrinogen and a prothrombin ratio at patients with HIV infection, were connected with having different hepatitis of the mixed etiology. There weren't any differences in indexes of the Acid-base State of all studied groups both before operation, and in the postoperative period. At a research of biochemical blood test in patients at late stages of HIV infection there were reliable increasing in activity the ALAT (or an alaninaminotransferase, – enzyme which defines a liver damage rate at hepatitis) and ASAT (aminotransferase is a protein that promotes maintaining of an organism the periods of starvation or the raised exercise stresses, providing supply of cells with ATP), in comparison with healthy patients. These changes were connected with coinfection (viral hepatitis C and/or viral hepatitis B), together with having drug addiction and/or abuse of alcohol. Indexes of cellular immunity in the preoperative period corresponded to the HIV infection stage. After operation at patients at late stages of HIV infection reliable decrease in CD4-lymphocytes and increase in CD8 lymphocytes was noted.

Annual increase in operational interventions concerning an acute appendicitis in HIV-positive patients is noted that is caused by the proceeding epidemic of this disease. Clinical signs of an acute appendicitis in HIV-positive patients in stages of IIB and IIV do not differ from a clinical picture in patients without HIV infection. At late stages of HIV infection (IIIA and IIIB) only, an acute appendicitis proceed with heavy complications that is caused by difficulty of diagnostics, a hiding of clinical picture and late treatment period. Laboratory data at HIV-positive patients not always matches with level of inflammatory process at an acute appendicitis. And because of the given results we can say that hypothesis of the article is partially confirmed.

# STUDY ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *LACTOBACILLUS PLANTARUM* MAL AGAINST *S. AUREUS* CLINICAL ISOLATES

X.A.Sohibnazarova<sup>1</sup>, M.I.Muminov<sup>2</sup>, I.M.Saidova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan,

<sup>2</sup>Center for Advanced Technologies

Infectious diseases caused by bacteria are very widespread and extremely becoming more and more frequent. More accumulative results have been suggesting that most bacteria species have become resistant against even strong antibiotics, particularly, clinical isolates of *Staphylococcus aureus* in many cases showing significant resistance to traditional antibiotics. Besides, Atopic Dermatitis the pathogen might lead to other several infections even to life threatening diseases that can only be treated by using combination of strong antibiotics. For this definite reason, finding new antimicrobial substances and searching for the replacement for antibiotics have become very crucial. Recent studies have shown bacteriocins (peptides) isolated from Lactic Acid Bacteria (LAB) can be core substances of antimicrobial drugs as well as food preservatives because of their highly specificity and promising antimicrobial activity against pathogens and conditional pathogens.

The purpose of the research were identifying antibiotic resistant *S.aureus* isolates and study antimicrobial activity of probiotic strain - *LactobacillusplantarumMal* against antibiotic sensitive and resistant *Staphylococcus aureus* isolates taken from patients diagnosed with dermatological diseases.

The antimicrobial activity of the *LactobacillusplantarumMal* strain against *Pseudomonas aeruginosa* isolates taken from patients who suffer from diabetes and purification of the bacteriocin synthesized from the strain have reported earlier [1,2].

**MaterialsandMethods.** The antibiotic sensitivity of *Staphylococcus aureus* isolates was checked by applying 10 different antibiotic discs related to 6 different classes of antibiotics. *Lactobacillus plantarum Mal* was isolated from *Malva neglecta* and 10clinicalisolatesweretakenfrompatientswhowerediagnosedwithAtopicDermatitis, Folliculitis and people suffering from acne. Screening of antimicrobial activity was checked by using agar well diffusion method. To do so the pathogen isolates were grown overnight in the Mueller Hinton broth and diluted until  $10^{-6-9}$  subsequently inoculated all over the entire agar surface. Then, a hole was punched aseptically with a sterile tip, and a volume 100  $\mu$ L of the cell free supernatant is introduced into the well.The agar plates were incubated overnight at 37°C and antimicrobial activity were evaluated in mm.

**Results.** The results suggested that some *Staphylococcus aureus* isolates are extremely resilient to several antibiotics, for instance, *Staphylococcus aureus* D-5 isolate showed completely resistance to 6 different antibiotics related to I, II, V and VI antibiotic classes and the inhibition zone was around 7,6 mm in average. Polimik (class V) showed the least antimicrobial activity in overall when checked against 10 *Staphylococcus aureus* isolates and average inhibition zone was around 11,3 mm with no impact to 4 isolates out of 10. On the other hand, the representative of the same class - Moxifloxacin has showed greatest antimicrobial activity with 28 mm in average.

The object of the study - *LactobacillusplantarumMal* showed antibacterial activity against all 10 isolates and inhibition zone ranged from 19 to 30 mm and the average inhibition zone was approximately 25.3 mm. Particularly the inhibition zone against antibiotic resistant *Staphylococcus aureus*D-5 isolate was around 25 mm. The greatest antimicrobial activity was seen against *Staphylococcus aureus*D-2, D-3, D-6, D-7 and D-8 and the least antimicrobial activity was seen against *S. aureus* D-9 and the inhibition zone was around 19 mm.

In conclusion, the results suggests that *LactobacillusplantarumMal* and its metabolites might be very promising and efficient agent against *Staphylococcus aureus* causing infectious diseases.

## Reference:

1. Антимикробная активность молочнокислых бактерий против клинических штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных у больных сахарным диабетом. “ОЛИМА АЁЛ – ИНТЕЛЛЕКТУАЛ САЛОҲИЯТ ВА ЖАМИЯТ ТАРАҚҚИЁТИ ЙЎЛИДАГИ ФИДОЙИ КУЧ”

мавзусида республика илмий-амалий анжуман  
Тошкент- 2019 йил 16 май 95-97 б 3 Сохибназарова Х.А. , Саидова И.М. , Ибрагимова Ш.Н.,  
Бабабеков А.Р., Муминов М.И. , Миралимова Ш.М

2. *Lactobacillus plantarum* Mal штаммидан бактериоцин Mal пептидларини тоза холда ажратиб олиш Генетика, геномика ва биотехнологиянинг замонавий муаммолари” Республика илмий конференцияси 2019 йил 342-344 б 3 Сахибназарова Х.А., Якубов И.Т., Муминов М.И., Ибрагимова Ш., Миралимова Ш.М.

## **ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ ПРИ АТОПИЧЕСКОМ ДЕРМАТИТЕ У ДЕТЕЙ, АССОЦИИРОВАННЫМ С ИНФИЦИРОВАНИЕМ *HELICOBACTER PYLORI* И ХРОНИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ВЕРХНИХ ОТДЕЛОВ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА**

*Е.В.Агафонова<sup>1,2</sup>, Г.Ш.Исаева<sup>1,2</sup>, Т.А.Велижinskая<sup>3</sup>*

<sup>1</sup> ФБУН «Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, г. Казань, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Казань, Россия

<sup>3</sup> Университетская клиника (РКБ № 2), г. Казань, Россия

Атопический дерматит (АД) представляет весьма актуальную проблему педиатрии, что связано с его хроническим рецидивирующим течением в детском возрасте и, часто, резистентностью к проводимой терапии. Известно, что на формирование патологического процесса в коже при АД значительное влияние оказывает состояние органов пищеварения и, в частности, патология, ассоциированная с инфицированием *Helicobacter pylori* (НР). Показано, что воспалительные изменения слизистых оболочек органов пищеварения, индуцируемые патогеном, способствуют повышению проницаемости для аллергенов, усиливая сенсibilизацию, и усугубляют течение хронического аллергодерматоза. Местный иммунный воспалительный процесс на слизистых оболочках, инициируемый НР, сопровождается формированием общей иммунной реакции с активацией и последующей депрессией Т-клеточного звена иммунитета, фазовыми изменениями фагоцитоза, острофазных белков и системы комплемента. Показано что при низкой иммуногенности, даже иммунодоминантные антигены НР (CagA, Vac A) формируют иммуносупрессию и аутоиммунное деструктивное воспаление. Исходя из вышеизложенного, цель исследования - изучение показателей иммунитета при АД у детей, ассоциированным с инфицированием НР и хроническими заболеваниями верхних отделов желудочно-кишечного тракта.

Материалы и методы. Исследование проводилось у детей с АД (N=20), протекающим на фоне патологии верхних отделов желудочно-кишечного тракта НР этиологии (n=11- хронический гастроудоденит, n=9-ЯБ 12 перстной кишки). АД характеризовался хроническим рецидивирующим течением и устойчивостью к традиционной терапии. Лабораторные исследования включали общий и специфический IgE (“Алкор-Био”, Россия; Immunoscap, “Phadia 100”). Исследования на НР включали: уреазные скрининг-тесты при проведении ФГДС (“Хелико-тест”, “Де-Нол-тест”), уреазный дыхательный тест, исследование кала на НР (метод иммунохроматографии). Всем больным проводили исследование антител к CagA антигену НР, с расчетом коэффициента позитивности (КП), который отражает уровень инфекционной нагрузки патогеном. В контроле обследована группа здоровых, сопоставимая по возрасту (N=25). Комплексное изучение показателей иммунного статуса с использованием метода проточной цитофлюориметрии проводились в иммунологической лаборатории Университетской клиники (“BeckmanCoulter”, USA). Изучали популяции и субпопуляции лимфоцитов -CD3+CD19-, CD3-CD19+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3-CD16/56+, CD4+CD25+Hi, CD3-CD8+, CD3+CD16/56+, CD3+CD4-CD8, CD4+CD8+, CD4+CD62L+, CD4+CD62L-, CD3+HLADR+, CD3+CD25+,



CD3+CD95+. Статистическую обработку результатов выполняли с помощью программы «Statistica 6.0», использовали корреляционный анализ и методы вариационной статистики с расчетом среднего арифметического (М), ошибки среднего арифметического (m) для  $p < 0,05$ , t-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Изучение показателей иммунитета было проведено как по основным клеточным популяциям и субпопуляциям (Т и В лимфоциты, естественные киллерные клетки), маркерам позитивной и негативной активации Т-лимфоцитов, структуре некоторых регуляторных и минорных субпопуляций. Изменения популяционного профиля при АД, ассоциированным с инфицированием НР характеризовались снижением абсолютного содержания CD3+CD19- (Т-лимфоциты;  $p < 0,05$ ), CD3+CD4+ (Т хелперы;  $p < 0,05$ ), CD3+CD8+ (Т-цитотоксические,  $p < 0,05$ ) и компенсаторным повышением популяции CD3-CD16/56+ (естественные киллерные клетки,  $p < 0,05$ ). Изменение профиля регуляторных популяций определялось повышением CD25+CD4+Hi (адаптивные регуляторные клетки;  $p < 0,001$ ), CD3+CD16/56+ (субпопуляция NKT, Т-регуляторные клетки, приобретающие супрессорные характеристики в процессе антигенной стимуляции;  $p < 0,05$ ), CD3-CD8+ (“цитотоксические” регуляторные;  $p < 0,05$ ), CD3+CD4-CD8- (“ранние” регуляторные;  $p < 0,05$ ) субпопуляций. Выявлены достоверные корреляции между уровнем КП к СаgАНРи содержанием CD25+CD4+Hi ( $r = 0,57$ ;  $p < 0,05$ ). NKT ( $r = 0,68$ ,  $p < 0,05$ ), CD3+CD4-CD8- ( $r = 0,72$ ;  $p < 0,05$ ). По видимому, повышенный уровень субпопуляций Т-лимфоцитов с функциями регуляторных/супрессорных клеток при АД и длительной персистенцией патогена НР определяется “наведенной” вторичной иммунологической недостаточностью клеточного типа. К минорным субпопуляциям, вызывающим активный интерес исследователей в последние годы, относится CD4+62L- высокодифференцированные эффекторы, характеризующиеся высокой способностью к продукции ИГН-γ, что ассоциируется с Th1 девиацией иммунного ответа. У пациентов с АД выявлено достоверное снижение субпопуляции CD4+62L- ( $p < 0,05$ ) и повышение CD4+62L+ ( $p < 0,05$ ). Выявлено нарастание содержания Т-лимфоцитов экспрессирующих маркеры активации - CD3+HLADR+ ( $p < 0,05$ ), CD3+CD25+ ( $p < 0,05$ ), CD3+CD95+ ( $p < 0,05$ ) с инверсией соотношения CD3+HLADR+/CD3+CD95+ в сторону “негативной” активации и индукции апоптоза.

Выводы. Таким образом, нами получены новые данные о модуляции иммунной системы при АД у детей, ассоциированных с длительной персистенцией НР. Изменения в структуре регуляторных субпопуляций определяются нарастанием в циркуляции лимфоцитов с иммуносупрессорной активностью и уменьшением содержания эффекторных клеток, девиацией Th 1/Th 2 в сторону Th 2 профиля иммунного ответа. Т-клеточная анергия и формирование вторичных иммунологических дисфункций у пациентов с АД на фоне длительной персистенции НР определяет необходимость проведения иммунокорригирующей терапии.

## **HELICOBACTER PYLORI ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ- РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ И ВЛИЯНИЕ НА МАРКЕРЫ АТОПИИ**

*Е.В. Агафонова<sup>1,2</sup>, Г.Ш. Исаева<sup>1,2</sup>, Л.В. Крестникова<sup>1,3</sup>.*

<sup>1</sup> ФБУН «Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора РФ, г. Казань, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Казань, Россия

<sup>3</sup> ФБУЗ “Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)” Роспотребнадзора РФ, г. Казань, Россия

*Helicobacter pylori* (НР) является одной из самых распространенных бактериальных инфекций у человека. Изучение патогенных свойств НР привело к переосмыслению взглядов на патогенез и принципы лечения не только хронических гастродуоденитов и язвенной болезни, но

экстрагастроудоденальной патологии, ассоциированной с инфекцией НР. В современных условиях, несмотря на видимые успехи в изучении аллергических заболеваний (АЗ), отмечается повсеместный рост и утяжеление их течения. Известно, что развитие многих АЗ протекает на фоне патологии желудочно-кишечного тракта, ассоциированной с внешнесредовыми факторами, среди которых ведущую роль занимает НР, при этом сведения о распространенности инфекции при данной патологии немногочисленны и противоречивы. При АЗ, особенно связанных с пищевой аллергией (хроническая рецидивирующая крапивница, атопический дерматит), отмечается селективное снижение выработки антихеликобактерных IgA-антител, что указывает на снижение барьерной функции слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта и способствует формированию сенсибилизации. НР также может индуцировать и IgE-опосредованный выход гистамина из человеческих базофилов *in vitro*, что свидетельствует и о неспецифическом, гистамин-опосредованном действии НР. Вместе с тем, ряд исследований формирует точку зрения о том, что НР, стимулируя Th1-направленный иммунный ответ, предотвращает развитие иммунологических реакций в направлении Th2 профиля, ответственного за формирование атопических заболеваний. Показано, что перенесенная инфекция НР предотвращает риск формирования таких АЗ как бронхиальная астма и аллергический ринит. Таким образом, в аспекте вышеизложенного, актуальными являются дальнейшие исследования в аспекте изучения взаимосвязей между инфицированием НР и АЗ.

Цель исследования-оценка распространенности инфицирования и влияний инфекционной нагрузки НР на параметры атопического статуса у пациентов с АЗ.

Материалы и методы. В исследование были включены пациенты, проходившие обследование в консультативно-диагностической поликлинике с симптомами АЗ (ринорея, заложенность носа, рецидивирующий кашель, приступы удушья, кожные рецидивирующие высыпания в сочетании с кожным зудом). По возрастному фактору были сформированы 3 группы: 1 группа-2-5 лет, 2 группа -6-10 лет, 3 группа - старше 10 лет и взрослые. Проводили сероиммунологический мониторинг распространенности НР на протяжении 5 летнего периода (N=879)-определение антител к антигену CagAHP ("Хелико- CagA-IgG") с расчетом коэффициента позитивности (КП), который отражает уровень инфекционной нагрузки. Всем больным проводилось исследование маркеров атопии-уровень общего IgE и специфических IgE (сIgE). Определение сIg E проводили с использованием наборов реагентов для количественного иммуноферментного определения сIgE в сыворотке крови "Аллерго-ИФА специфические IgE"(фирма "Алкор-Био", Россия), а также с использованием технологии Immunocap, "Phadia 100"). Аллергологическое обследование включало определение наиболее часто встречающихся сIgE - пищевых в группе 1 (коровье молоко, яичный белок, пшеничная мука, яблоко, соя), пищевых и ингаляционных в группе 2 (клещи домашней пыли - *Dermatofagoideus pteronissimus*, *dermatofagoideus farina*, смесь трав, береза, полынь, микст плесневых грибов, коровье молоко, яичный белок, пшеничная мука, яблоко, соя), ингаляционных в группе 3 (*Dermatofagoideus pteronissimus*, *Dermatofagoideus farina*, смесь трав, береза, полынь, микст плесневых грибов). Результаты выражали в классах согласно инструкциям фирм производителей. Определение общего IgE проводили с использованием тест-систем фирмы "Хема-медика", Россия.

Результаты. При анализе 879 обследованных пациентов с повышенным уровнем общего IgE и симптомами атопии выявлено наличие серопозитивных сывороток к антигену CagA НР в 31,5% (n=277). При изучении возрастной динамики инфицированности количество серопозитивных сывороток нарастало в группах - дети младшего школьного возраста (группа 2;  $p<0,05$ ) и возрастной категории – старший школьный возраст, взрослые (группа 3;  $p<0,05$ ). Для характеристики влияния НР на маркеры атопии нами вводился коэффициент оппозитного баланса (КОБ)- % отрицательных/% положительных результатов обследования пациента на сIgE. Оппозитное действие выявлялось при КОБ $> 1,2$  что характеризовалось преобладание отрицательных результатов специфического аллергологического обследования, КОБ $< 0,8$  -баланс отрицательных и положительных результатов смещен в сторону преобладания положительных, что характеризует синергическое влияния патогена на показатели атопического статуса. КОБ в группе 1 составил 2,8, он снижался в группах 3 и 4 (0,6-0,2;  $p<0,05$ ,  $p<0,001$  соответственно).

Выявлена отрицательная взаимосвязь между КП и наличием антител к антигену CagAHP в группе 1 ( $r=-0,67$ ,  $p<0,05$ ), что характеризует оппозиционное влияние на формирование atopического статуса у пациентов раннего и дошкольного возраста. В группе 2 и 3 также выявлены прямые взаимосвязи между КП и наличием антител к антигену CagAHP ( $r=0,55$  в группе 2,  $r=-0,73$  в группе 3;  $p<0,05$ ,  $p<0,05$  соответственно) что характеризовало синергическое действие патогена на маркеры атопии в группах –дети школьного возраста, взрослые. Регистрировались прямые корреляции между КП и параметрами atopического статуса-общим IgE ( $r=0,61$ ;  $r=0,57$ ;  $0,79$  в группах 1,2,3) и cIgE. В группе 2- между КП и cIgE к аллергенам коровьего молока ( $r=0,66$ ;  $p<0,05$ ), яичного белка ( $r=0,61$ ;  $p<0,05$ ), пшеничной муки ( $r=0,56$ ;  $p<0,05$ ), сои ( $r=0,66$ ;  $p<0,05$ ), в группах 2 и 3 между КП и cIgE к *Dermatofagoideus pteronissimus* ( $r=0,57$ ;  $0,79$ ), миксту плесневых грибов ( $r=0,57$ ;  $0,79$ ).

Таким образом показано, что при высокой распространенности инфицирования у пациентов с АЗ, характер влияния на параметры atopического статуса различен в изучаемые возрастные периоды. Существенным, для оценки влияния НР на параметры atopического статуса являются показанные в нашем исследовании явления неспецифического и специфического потенцирования сенсибилизации.

## ФЕРМЕНТАТИВНАЯ ОБРАБОТКА РАСТИТЕЛЬНЫХ ОТХОДОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ

Н.Ш.Азимова, Х.Х.Каримов, Б.И.Тураева, Н.Ю.Зухритдинова, Х.М.Хамидова

НИИ Микробиологии АН РУЗ, г. Ташкент, Узбекистан

Известно, что остатки растений, накапливающиеся в виде сельскохозяйственных и промышленных отходов, являются самым дешевым и возобновляемым источником сырья, который может быть использован для получения многих полезных продуктов посредством микробиологической переработки. Это является сложным биотехнологическим процессом, требующим использования продуцента, обладающего высокой целлюлолитической активностью, синтезирующего белки, аминокислоты и другие биологически активные вещества.

Переработка целлюлозосодержащих отходов в белково-витаминные легкоусвояемые в кормовые продукты - очень важная и привлекательная задача, т.к. это способствует увеличению кормовой базы республики.

Измельченные растительные отходы после ферментативной обработки гидролизуются до моносахаров, обогащаются белками, аминокислотами, витаминами и другими физиологическими веществами.

Цель - повышение качества растительных отходов используемых для кормления за счет проведения твердофазной ферментации грибом *T. harzianum* UzCF 28 с целью создания биопрепарата, способствующего обогащению его сахарами, белком и другими биологическими активными соединениями.

Ранее нами выделен и запатентован мицелиальный гриб *Trichoderma harzianum* UzCF 28, синтезирующий все ферменты целлюлолитического комплекса, аминокислоты, белок, сахара.

Изучена возможность использования отходов пшеницы (пшеничной соломы, пшеничных отрубей) и риса (рисовой соломы, шелухи), являющихся основными сельскохозяйственными растениями нашей республики, а также верблюжьей колючки – трудноусвояемого в животном организме растения, для получения кормовых добавок, богатых белком и углеводами с использованием гриба *T. harzianum* UzCF 28. Культивирование осуществляли поверхностным способом при 28-30 °C на твердой питательной среде, содержащей эти субстраты, измельченные до 0,2-0,5 мм. В водном вытяжке определяли активность целлюлолитических ферментов и фермента ксиланазы, а также количество образовавшихся восстановленных сахаров и белков в динамике течение 10 суток.

Показано что активный рост гриба *T. harzianum* UzCF 28 наблюдался на всех испытанных субстратах. Было отмечено, что активность целлюлолитических ферментов и ксиланазы достигала

максимального уровня на 4-5 сутки культивирования. Максимальное образование белков и восстановленных сахаров также наблюдалось во всех средах уже на 1-2 сутки выращивания.

Максимальная активность целлюлаз и ксиланазы способствовала высокому осахариванию целлюлозосодержащих растительных субстратов. Интенсивный рост активно расщепляющего целлюлозу штамма на растительных отходах и их ферментативный гидролиз показывает возможность его использования для получения углеводных и белковых кормов обладающих высокой питательностью и низкой себестоимостью для сельскохозяйственных животных.

Таким образом, использование вышеперечисленных растительных отходов в качестве субстрата при твердофазной ферментации гриба *T. harzianum* UzCF 28, является эффективным способом получения белково-ферментативной кормовой добавки. На основе изученного гриба разработан кормовой препарат обогащающий растительные отходы сахарами, аминокислотами, белком.

## МУТАЦИИ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*, ВЫЗВАННЫЕ ФИЗИЧЕСКИМИ И ХИМИЧЕСКИМИ ФАКТОРАМИ

*С.Г.Аккузина, Н.А.Видякина, М.В.Медведева*

ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России, г. Киров, Россия

Объектом исследования в работе являются дрожжи *S. cerevisiae* сухие быстродействующие, используемые в хлебопечении. В процессе производства продукции на дрожжевые клетки действуют факторы, которые могут приводить к изменению их свойств и как результат формирование рас дрожжей, отрицательно влияющих на качество продукции и здоровье человека.

Целью наших исследований стало выяснение действия химических (насыщенные растворы лимонной кислоты, пищевой соды, соли и сахара), физических (электромагнитного излучения СВЧ-печи, компьютера, воздействие холода) факторов на клетки *S. cerevisiae*.

В работе использованы бактериологический и технологический методы исследования.

Морфологические свойства клеток *S. cerevisiae* изучали микроскопией мазков, окрашенных по Граму. Характер роста грибов исследовали культивированием на среде Сабуро, биохимическую активность - на средах Гисса. Подъемная сила культур определялась по ГОСТ 28483-90. Дрожжи хлебопекарные сушеные. Технические условия.

Воздействие химическими и физическими факторами на дрожжи осуществляли в течение 30 минут, кроме сверхвысокочастотного электромагнитного излучения СВЧ-печи – 2 минуты.

Первичной микроскопией объекта исследования установлено, что форма клеток овальная, расположение в мазке беспорядочное, по Граму окрашиваются положительно; культура *S. cerevisiae* ферментировала глюкозу до кислоты, подъемная сила дрожжей составила 5,39 минуты.

При воздействии сверхвысокочастотного электромагнитного излучения СВЧ-печи мощностью 800 W и температуре 70 °C произошло обугливание части дрожжевой массы. Микроскопия уцелевшего материала показала уменьшение клеток в размере, как и при воздействии электромагнитного излучения компьютера. Отмечено также изменение тинкториальных свойств дрожжей после воздействия излучения компьютера - окраска по Граму клеток стала отрицательной. Действие электромагнитных лучей изменило ферментативную активность культуры – кроме глюкозы ферментация наблюдалась и у лактозы до кислоты и газа. Подъемная сила дрожжей после воздействия сверхвысокочастотного электромагнитного излучения СВЧ-печи снизилась в 6 раз (31,54 минуты), выдержка у компьютера не изменила величину показателя – 5,36 минуты.

Воздействие холода (-18°C) не оказало влияние на морфологические и ферментативные свойства *S. cerevisiae*. Время подъема теста произошло даже на полторы минуты быстрее, чем у первичного образца и составило - 4 минуты.

Обработка дрожжей раствором лимонной кислоты вызвала изменение тинкториальных свойств - окраска по Граму (отрицательная), биохимических - дрожжи стали ферментировать

лактозу до кислоты и газа. Всплытия тестового шарика, замешанного на таких дрожжах, не произошло в течение 60 минут. Подъемной силой такие дрожжи не обладали.

Воздействие насыщенного раствора пищевой соды вызвало снижение подъемной силы до 47, 35 минут. Другие свойства *S. cerevisiae* не изменились.

При микроскопии клеток дрожжей, выдержанных в насыщенных растворах сахара или соли, отмечали, что они стали крупнее, изменилась их окраска по Грамму с положительной на отрицательную. Воздействие соли вызвало активизацию дрожжей в отношении лактозы - ферментация до кислоты. Подъемная сила дрожжей возросла на 1 минуту после воздействия раствора сахара и составила 4,38 минуты, а после воздействия раствора соли ослабла более чем в 7 раз - 36,25 минуты.

Таким образом, установлено

1. Электромагнитное излучение вызывает изменение морфологических (изменение формы клеток), тинкториальных (окраска по Грамму - отрицательная) и биохимических свойств (проявление активности в отношении лактозы), а также замедление подъемной силы *S. cerevisiae*.

2. Действие холода повышает подъемную силу дрожжей *S. cerevisiae*

3. Воздействие насыщенного раствора лимонной кислоты и соли на клетки *S. cerevisiae* приводит к изменению морфологических (укрупнению размеров клеток), тинкториальных (изменению окраски по Грамму) и биохимических свойств дрожжей (проявление активности в отношении лактозы), а также потере или замедлению процесса подъема тестового шарика.

4. При выдержке дрожжей в насыщенном растворе сахара клетки *S. cerevisiae* становятся крупнее и увеличивается их подъемная сила.

## **ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ТОЛСТОЙ КИШКИ ПАЦИЕНТОВ С ДЕКОМПЕНСИРОВАННЫМИ ФОРМАМИ ХРОНИЧЕСКОГО КОЛОСТАЗА**

*А.А. Арзамасцева<sup>1</sup>, А.С. Волкова<sup>1</sup>, Д.Р. Хуснутдинова<sup>1</sup>, К.А. Сакулин<sup>2</sup>, О.Ю. Карпухин<sup>2</sup>,  
Д.Р. Яруллина<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО КФУ, Институт фундаментальной медицины и биологии, Россия, г. Казань,  
Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, г. Казань, Россия

Хронический колостаз (ХК) - стойкое или интермиттирующее, продолжающееся более шести месяцев нарушение функции толстой кишки с урежением частоты стула до трёх и менее раз в неделю [Шельгин, Благодарный, 2012]. На сегодняшний день решение проблемы ХК остается одним из наиболее актуальных в колопроктологии, что связано высокой распространенностью данного заболевания: ХК подвержено 30-50% взрослого населения, а в возрастной группе старше 60 лет данный показатель доходит до 60% [Костырной с соавт., 2015]. Колостаз может приводить к сильному снижению качества жизни и работоспособности, к психологическим проблемам, а также влиять на развитие других заболеваний: доброкачественных и злокачественных новообразований кишечника, дивертикулярной болезни толстой кишки, полиорганной недостаточности на фоне хронической интоксикации [Самсонов, 2009; Wexner *et al.*, 2006]. В этиологии ХК, наряду с другими факторами, значительная роль принадлежит сдвигам в кишечной микробиоте [Карпухин с соавт., 2016]. Однако до сих пор не установлены конкретные изменения архитектуры микробного сообщества желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), которые были бы специфичны для ХК. В качестве возможных механизмов микробной регуляции сократительной активности кишечника предполагается участие (а) конечных продуктов микробного метаболизма, (б) медиаторов, которые выделяются клетками иммунной системы в ответ на симбиотические микроорганизмы, (в) кишечных нейроэндокринных факторов [Джавадов, 2011; Barbara *et al.*, 2005].

Целью работы является характеристика состава микробного сообщества толстой кишки пациентов с хроническим колостазом и выявление его членов, функционально активных в отношении моторно-эвакуаторной функции кишечника.

**Материалы и методы.** В качестве объекта исследования использовали 18 резецированных препаратов толстой кишки пациентов, прооперированных по поводу декомпенсированной формы хронического колостаз. Материал исследовали в соответствии с разрешением Локального этического комитета ГБОУ ВПО КГМУ МЗ РТ (протоколы №9 от 24.11.2015, №3 от 21.03.2017).

Методами классической микробиологии оценили общую обсемененность образцов аэробными и факультативно анаэробными бактериями на БТН-агаре («Биотехновация», Россия), а также отдельными группами микроорганизмов: *Bifidobacterium* spp. – на агаре для бифидобактерий (HiMedia Laboratories Limited, Индия), энтеробактериями – на среде Эндо (ФГУП НПО «МИКРОГЕН» МЗ РФ, Россия), *Salmonella* spp. и *Shigella* spp. – на бактоагаре Плоскирева (ФГУП НПО «МИКРОГЕН» МЗ РФ, Россия), молочнокислыми бактериями (МКБ) – на среде для выделения молочнокислых бактерий с мелом [Нетрусов с соавт., 2005], *Lactobacillus* spp. – на MRS-агаре (De Man, Rogosa, Sharpe).

Секвенирование генов 16S рРНК выполнили на секвенаторе MiSeq (Illumina). Анализ полученных последовательностей гена 16S рРНК проводили с использованием биоинформатического пакета QIIME v. 1.9.1. (<http://qiime.org/>). Полученные для 15 образцов последовательности были сгруппированы в операционные таксономические единицы (ОТЕ) на основе 97%-ного порога сходства сиквенсов по библиотеке референсных последовательностей базы данных GreenGenes v. 13.8 [DeSantis et al., 2006]. Для оценки биоразнообразия и проведения сравнительного анализа сообществ были рассчитаны параметры альфа- и бета-разнообразия: число ОТЕ в образце, индексы Симпсона, Чао 1 и Шеннона. Оценку бета-разнообразия проводили с использованием алгоритмов «unweighted» и «weighted» Unifrac [Lozupone et al., 2011] с последующей визуализацией методом анализа главных координат (PCoA).

**Результаты и обсуждение.** Образцы кишечника, полученные от разных пациентов, значительно отличались по микробному пейзажу и обсемененности. Тем не менее, в большинстве образцов отмечено высокое содержание МКБ: от  $10^3$  до  $1.6 \cdot 10^{15}$  КОЕ/г. В трети исследованных образцов присутствовали бактерии семейства *Enterobacteriaceae* в количестве от  $5.9 \cdot 10^4$  до  $2.6 \cdot 10^{13}$  КОЕ/г, а в двух образцах обнаружены представители родов *Salmonella* и *Shigella* ( $7.5 \cdot 10^5$  и  $10^5$  КОЕ/г).

В результате высокопроизводительного секвенирования 15 образцов получено 1478190 ридов. Среднее количество ридов на образец составило  $98546 \pm 31776$ . Риды были объединены в 460 ОТЕ/образец (среднее), с минимумом 201 и максимумом 592 ОТЕ. Анализ индексов биоразнообразия показал, что для всех образцов полученные данные секвенирования были достаточными для охвата подавляющего большинства содержащихся в них видов микроорганизмов. На основе анализа PCoA установлено, что восемь образцов сгруппированы в кластер, что свидетельствует о филогенетическом сходстве состава их микробиоты. Тем не менее, общий анализ бета-разнообразия показал отсутствие кластеризации образцов по возрасту и полу. Взаимосвязь между анатомией толстой кишки (долихоколон, мегадолихоколон) и составом кишечной микробиоты также не обнаружена. Следовательно, возраст, пол пациентов и анатомия толстого отдела их кишечника не оказывают значимого влияния на развитие у них ХК.

У больных с ХК в толстой кишке обнаружено в общей сложности 18 прокариотических фил, в том числе четыре основных - *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* и *Actinobacteria*, и 14 минорных - *Euryarchaeota*, *Acidobacteria*, *Cyanobacteria*, *Elusimicrobia*, *Fusobacteria*, *Lentisphaerae*, *Planctomycetes*, *Spirochaetes*, *Synergistetes*, *TM7*, *Tenericutes*, *Verrucomicrobia*, *WPS-2* и [*Thermi*]. Четыре мажорные филы присутствовали во всех образцах, в то время как представители *Acidobacteria*, *Elusimicrobia*, *Planctomycetes*, *Spirochaetes* обнаружены только в единичных образцах. На уровне семейств и родов доминирующими таксонами были *Bacteroides* ( $18,0\% \pm 14,9\%$ ), неклассифицированный член семейства *Ruminococcaceae* ( $9,8\% \pm 7,3\%$ ), семейства *Lachnospiraceae* ( $9,5\% \pm 6,9\%$ ), *Enterobacteriaceae* ( $8,0\% \pm 10,9\%$ ) и *Prevotella* ( $5,5\% \pm 6,9\%$ ). Данные о составе кишечного микробиома, полученные двумя разными методами, существенно отличались, что подтверждает известные представления о преобладании в составе мукозной микробиоты толстой кишки облигатно анаэробных микроорганизмов и/или находящихся в некультивируемом состоянии.

В данной работе нами были определены отдельные компоненты кишечного микробиома и их метаболиты, которые способны подавлять моторную функцию кишечника. В образцах толстой кишки пациентов с ХК нами идентифицированы отдельные члены ацетат-, пропионат- и бутират-продуцирующей микробиоты. Известно, что в высоких концентрациях короткоцепочечные жирные кислоты оказывают ингибирующее влияние на моторику кишечника [Baxter *et al.*, 2014; Larraufie *et al.*, 2016]. Так, установлена связь между увеличением количества бутират-продуцирующих представителей рода *Faecalibacterium* и запорами [Parthasarathy *et al.*, 2016]. В исследуемых образцах мы обнаружили бутират-продуцирующие роды (*Roseburia* (0,5% ± 0,008%), *Coprococcus* (1,5% ± 0,019%), *Faecalibacterium* (1,0% ± 0,014%)), но в меньшем количестве по сравнению с данными предыдущих метагеномных исследований [Zhu *et al.*, 2014; Mancabelli *et al.*, 2017].

Показано, что у пациентов с ХК в кишечном микробном сообществе повышено содержание метаногенов, а продуцируемый ими метан оказывает угнетающее действие на моторную функцию толстой кишки [Attaluri *et al.*, 2010; Jahng *et al.*, 2012]. В отдельных образцах мы выявили метаногенные археи семейства *Methanobacteriaceae* (до 3,6%). Данный показатель может быть заниженным, т.к. в работе мы анализировали ген 16S рРНК, тогда как для выявления метаногенных архей принято использовать ген метил-коэнзим-М-редуктазы (*mcrA*).

Сероводород в физиологических концентрациях является высокотоксичным для колоноцитов, нарушает их метаболическую функцию, особенно окисление бутирата, способен вызывать повреждение ДНК и воспалительные реакции [Attene-Ramos *et al.*, 2010; Medani *et al.*, 2011]. Род *Akkermansia*, который был одним из наиболее распространенных в микробиоте кишечника пациентов с ХК (2,71%), вовлечен в пути метаболизма H<sub>2</sub>S в кишечнике [Vandeputte *et al.*, 2016; Cao *et al.*, 2017]. При этом содержание *A. muciniphila* в образцах сильно варьировало: данный вид не был обнаружен в восьми исследуемых образцах, а в остальных количество составило от 0,015% до 19,34%. Увеличение относительного содержания в образцах семейства *Verrucomicrobiaceae* (род *Akkermansia*) может указывать на возможное повышение количества H<sub>2</sub>S в кишке, роль которого в этиологии и патогенезе заболеваний ЖКТ, в частности, колостаз, заслуживает дальнейшего изучения.

Таким образом, нами не выявлена функциональная связь между составом микробного сообщества толстой кишки и ХК, но идентифицированы отдельные члены кишечной микробиоты, которые могут влиять на сенсорно-моторную функцию кишечника посредством продукции метана (*Methanobrevibacter*), сероводорода (*Desulfovibrio*, *Bilophila*, *Escherichia*, *Akkermansia*), бутирата (*Clostridiales*), пропионата (*Bacteroides*, *Akkermansia*) и ацетата (многие таксоны).

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 18-415-160005 р\_а в рамках Программы повышения конкурентоспособности КФУ с использованием оборудования Междисциплинарного ЦКП КФУ для обеспечения клеточных, геномных и постгеномных исследований в Приволжском регионе.

#### Список использованной литературы:

1. Джавадов, Э. А. О. Хирургическое лечение больных с хроническим колостазом на фоне долихоколон: автореф. дис. ... док. мед. наук Российский ун-т дружбы народов. Москва, 2011. 32 с.
2. Карпухин, О. Ю., Можанов Е. В., Шакуров А. Ф., Елеев А. А. Лапароскопический и лапаротомный доступ в хирургическом лечении хронического // Практическая медицина. – 2016. – Т. 1. – № 4. – С. 93-96.
3. Костырной А. В., Шевкетова Э. Р. Хронические запоры: вопросы диагностики и хирургического лечения // Казанский медицинский журнал. – 2015. – Т. 96. – № 6. – С. 1004-1009.
4. Нетрусов А. И., Егорова М. А. Практикум по микробиологии // Москва, 2005. 608 с.
5. Самсонов А. А. Синдром хронического запора // Русский медицинский журнал. – 2009. – Т. 17. – № 4. – С. 233-237.
6. Шелыгин Ю. А., Благодарный Л. А. Справочник по колопроктологии // М.: Литтерра. – 2012. – 596 с.

7. Attaluri A., Jackson M., Valestin J. Methanogenic flora is associated with altered colonic transit but not stool characteristics in constipation without IBS // *Am. J. Gastroenterol.* – 2010. – N. 105. – P. 1407-1410.
8. Barbara G., Stanghellini V., Brandi G. *et al.* Interactions between commensal bacteria and gut sensorimotor function in health and disease // *Am J Gastroenterol.* – 2005. – V. 100. – N. 11. – P. 2560-2568.
9. Baxter N. T. *et al.* Structure of the gut microbiome following colonization with human feces determines colonic tumor burden // *Microbiome.* – 2014. – N. 2. – P. 20.
10. Cao H. *et al.* Dysbiosis contributes to chronic constipation development via regulation of serotonin transporter in the intestine // *Sci Rep.* – 2017. – N. 7. – P. 10322.
11. Jahng J. *et al.* The effects of methane and hydrogen gases produced by enteric bacteria on ileal motility and colonic transit time // *Neurogastroenterol Motil.* – 2012. – V. 24. – P. 185-190.
12. Larraufie P. *et al.* TLR ligands and butyrate increase Pyy expression through two distinct but inter-regulated pathways // *Cellular microbiology.* – 2016. – V. 19. – N. 2. – P. 92-95.
13. Lozupone, C. *et al.* UniFrac: an effective distance metric for microbial community comparison // *The ISME Journal.* 2011. V. 5. P. 169–172.
14. Mancabelli, L. *et al.* Unveiling the gut microbiota composition and functionality associated with constipation through metagenomic analyses // *Sci Rep.* 2017. V. 7. P. 9879.
15. Parthasarathy, G. *et al.* Relationship between microbiota of the colonic mucosa vs feces and symptoms, colonic transit, and methane production in female patients with chronic constipation // *Gastroenterology.* – 2015. – V. 150. – P. 367-379.
16. Vandeputte D. *et al.* Stool consistency is strongly associated with gut microbiota richness and composition, enterotypes and bacterial growth rates // *Gut.* – 2016. – N. 65. – P. 57-62.
17. Zhu, L. *et al.* Structural changes in the gut microbiome of constipated patients // *Physiological genomics.* 2014. V. 46. P. 679–686.

## **ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНК ЭНТЕРОБАКТЕРИЯМИ ПРИ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЯХ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ КРУПНЫХ СУСТАВОВ**

*И.В.Бабушкина, А.С.Бондаренко, С.П.Шпиняк, В.Ю.Ульянов*

НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, Россия

Имплантат-ассоциированная инфекция является одной из основных проблем в травматологии и ортопедии, что связано необходимостью выполнения ревизионных хирургических вмешательств и большими материальными затратами на лечение пациентов [1]. Наиболее тяжелыми остаются осложнения, вызванные грамотрицательными бактериями, что связано с их высокой вирулентностью и патогенностью, частым развитием антибиотикорезистентности [1, 2].

В настоящее время имеются данные о том, что большинство возбудителей имплантат-ассоциированной инфекции существует в форме биопленок [3, 4], которые являются основным фактором патогенеза развития перипротезной инфекции в травматологии и ортопедии, обеспечивают бактериям большую устойчивость к неблагоприятным факторам внешней среды по сравнению с планктонными формами и создают значительные проблемы в диагностике и лечении имплантат-ассоциированной инфекции [5, 6].

Для обоснования патогенетически обоснованных подходов к микробиологической диагностике и этиотропному лечению инфекционных осложнений после эндопротезирования крупных суставов необходимым является исследование способности к формированию биопленок грамотрицательными бактериями, выделенными у пациентов с имплантат-ассоциированной инфекцией.



**Цель исследования.** Изучение динамики формирования биопленок в условиях *in vitro* клиническими штаммами энтеробактерий, выделенными у пациентов с инфекционными осложнениями тотального эндопротезирования крупных суставов.

**Материалы и методы.** В исследование включены 23 штамма грамотрицательных бактерий, принадлежащих к семейству *Enterobacteriaceae* и выделенных из различного клинического материала пациентов с инфекционными осложнениями после тотального эндопротезирования крупных суставов (средний возраст пациентов -  $59,7 \pm 7,92$  лет; мужчин - 35,4%, женщин – 64,6%), находившихся на лечении в НИИТОН СГМУ им. В.И. Разумовского в 2017-2019 гг. Видовой состав изученных штаммов: 14 штаммов - *E.coli*, *Enterobacterspp.* – 9 штаммов, также изучена способность к формированию биопленок у референс-штамма *E.coli* ATCC 25922.

Клинические штаммы были выделены из отделяемого поверхностных и операционных ран, свищей, аспирата из полости суставов, гомогенизированных биоптатов мягких тканей, жидкости после ультразвуковой обработки удаленных компонентов эндопротеза. Ультразвуковую обработку осуществляли в течение 10 минут в УЗ-установке «УЗУМИ-2».

Выделение чистой культуры и идентификацию возбудителей проводили в соответствии с Приказом МЗ СССР №535 от 22.04.1985 г. «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» с использованием микробиологического анализатора Crystal AutoReader (Becton Dickinson).

Формирование биопленок изучали с помощью определения способности микроорганизмов к адгезии на поверхности 96-луночного полистиролового планшета по методу G.D.Christensen [7].

Исследуемые штаммы культивировали в течение 24 часов при температуре 37°, готовили бактериальную суспензию в 0,9% р-ром NaCl в концентрации  $5 \times 10^6$  КОЕ/мл с помощью Densi-La-Meter (Pliva-Lachema Diagnostika), по 100 мкл суспензии помещали в лунки стерильных полистироловых микротитровальных планшетов «Elisaplates, JETBIOFIL», затем добавляли по 100 мкл ГРМ-бульона с глюкозой, использовали 4-кратную повторность. Стерильный 0,9% р-р NaCl и ГРМ-бульон в соотношении 1:1 по 100 мкл без добавления бактериальной взвеси использовали в качестве отрицательного контроля, последовательность манипуляций была аналогичной опытным лункам. Планшеты инкубировали в течение 24, 48 и 72 ч при 37° С, затем удаляли культуральную жидкость с планктонными бактериями, промывали трехкратно 0,9% р-ром NaCl. Для окрашивания биопленки добавляли в лунки по 200 мкл раствора 0,1% генцианвиолета на 30 мин., удаляли краситель, не связавшийся с биопленкой, с помощью 3-кратной промывки 0,9% р-ром NaCl. Для растворения красителя, который связался с биопленкой, в каждую лунку добавляли по 200 мкл 95% этанола на 20 минут.

Количественную оценку биомассы микробных биопленок проводили по интенсивности окраски элюатов кристаллического фиолетового на спектрофотометре Epoch (Биотек, США) (ЕД оптической плотности) при длине волны 620 нм.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Statistica 10.0. Проверку вариационных рядов на нормальность распределения выполняли по критерию Шапиро-Уилка. При статистическом анализе использовали непараметрические методы исследования с вычислением средней (М), стандартного отклонения средней ( $\pm SD$ ), медианы (Me), 25-го и 75-го квартилей (Q). Для сравнения двух независимых выборок использовали тест Колмогорова-Смирнова, нескольких независимых выборок использовали непараметрический дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса, двух зависимых выборок - непараметрический анализ Манна-Уитни. Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

### **Результаты.**

Проведен сравнительный анализ способности к биопленкообразованию клинических штаммов энтеробактерий (*Escherichia coli*, *Enterobacter spp.*) и референсных штаммов. После инкубации в течение 24 часов оптическая плотность экстрактов красителя клинических штаммов энтеробактерий составила 0,945 (0,831; 1,127), что свидетельствует о быстром формировании биомассы микробной пленки, отмечены достоверные ( $p < 0,001$ ) отличия от значений оптической плотности элюатов референсных штаммов энтеробактерий - 0,098 (0,075; 0,120). При инкубации планшетов в течение 48 часов оптическая плотность экстрактов составила 1,234 (0,968; 1,352), при

инкубации до 72 часов отмечали снижение оптической плотности красителя до 0,594 (0,309; 0,725).

При анализе динамики формирования биопленки энтеробактерий отмечено, что в течение первых 24 часов произошло быстрое увеличение биомассы бактериальной пленки (в 10,12 раза выше показателей референс-штаммов), при инкубации планшетов в течение 48 часов отмечали тенденцию к дальнейшему увеличению массы биопленки. К 72 часам инкубации наблюдали статистически значимое ( $p < 0,05$ ) снижение массы микробной биопленки по отношению к 1-м суткам инкубации.

Оптическая плотность экстрактов референсных штаммов энтеробактерий на протяжении всего периода инкубации сохранялась на низком уровне, характерном для штаммов, не формирующих биопленку.

При сравнительном анализе способности к биопленкообразованию штаммов энтеробактерий, выделенных из различного биологического материала, установлено, что значения оптической плотности экстрактов штаммов, полученных из соникационной жидкости составили 1,329 (1,042; 1,514) и были достоверно ( $p < 0,05$ ) выше, чем у штаммов, выделенных из аспиратов, оптическая плотность которых составила 0,638 (0,471; 0,790) и штаммов из отделяемого ран - 0,841 (0,750; 0,948).

**Выводы.** В результате исследования установлено, что клинические штаммы энтеробактерий, выделенные у пациентов с имплантат-ассоциированными инфекционными осложнениями, обладают выраженной способностью к формированию биопленок. Для динамики формирования биопленки у клинических штаммов энтеробактерий было характерно быстрое нарастание биомассы пленки в первые сутки, пролонгации фазы созревания биопленки до 48 часов, что характеризовалось снижением скорости нарастания биомассы. Стадия дисперсии биопленки в период 48-72 часов инкубации сопровождалась уменьшением биомассы пленки.

Штаммы энтеробактерий, выделенные из аспирата из полости суставов, характеризовались достоверно ( $p < 0,05$ ) меньшей способностью в биопленкообразованию, чем штаммы, выделенные из биоптатов мягких тканей и соникационной жидкости, что может быть связано с преобладанием планктонных форм в аспиратах и отделяемом поверхностных ран. Биопленка является основным патогенетическим фактором инфекционного процесса и может быть выявлена при использовании методов микробиологической диагностики, предполагающих ее механическую или ультразвуковую деструкцию: исследование гомогенизированных биоптатов мягких тканей и соникационной жидкости.

## Литература

1. Божкова С.А., Тихилов Р.М. Материалы международной согласительной конференции по перипротезной инфекции. СПб.: РНИИТО им. Р.Р. Вредена. 2014; 355.
2. Афиногенова А.Г., Даровская Е.Н. Микробные биопленки ран: состояние вопроса. *Травматология и ортопедия России*. 2011; 3: 119-25.
3. Голуб А.В. Бактериальные биопленки – новая цель терапии? *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2012; 14 (1): 23-9.
4. Бабушкина И.В., Бондаренко А.С., Ульянов В.Ю., Чибрикова Ю.А., Адилов Р.Г., Купина Е.С. Этиологическая роль условно-патогенной микрофлоры в патогенезе имплантат-ассоциированного воспаления у больных после первичного эндопротезирования коленного сустава. *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2018; 14 (1): 30–34.
5. Структурно-функциональная характеристика бактериальных биопленок / Т. А. Смирнова [и др.] // *Микробиология*. 2010, №4. Т. 79. С. 435–446.
6. Wolcott R. The role of biofilms: are we hitting the right target? Current concepts in wound Healing: Update 2011. R. Wolcott, S. Down. *Plastic and reconstructive surgery*. 2011; 1 (127): 28-37.
7. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of *Staphylococci* to medical devices / G. D. Christensen [et al.] // *Journal of clinical microbiology*. 1985, №6. Vol. 22. P. 996–1006.

# АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЁЗА В ОМСКЕ И ОМСКОЙ ОБЛАСТИ НА ОСНОВАНИИ РЕТРОСПЕКТИВНЫХ ДАННЫХ ЗА 2008-2017 ГОДЫ.

*С.Н.Батурлина, А.Х.Нурпеисова, В.Ю.Плешков, Д.И.Махсудова*

ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Омск,  
Россия

Сибирский и Северо-Кавказский Федеральные Округа определяют основное эпизоотолого-эпидемиологическое неблагополучие по бруцеллёзу в Российской Федерации. Более 70% больных бруцеллезом, и большая часть пунктов, неблагополучных по бруцеллезу животных (более 95%) приходится на эти округа. Несмотря на невысокий уровень заболеваемости людей бруцеллёзом (0,3-0,4 на 100 тыс. нас.) на протяжении последних 10-15 лет по Российской Федерации, истинные эти показатели гораздо выше. Это связано с тем, что регистрируют только впервые диагностированные случаи, в то время как учёт хронических форм практически не ведётся.

Бруцеллёз - особо опасная инфекция II группы патогенности, приносящая экономический ущерб, обусловленный инвалидностью больных за счёт преимущественного поражения опорно-двигательного аппарата и нервной системы.

К роду *Brucella* относятся патогенные виды для человека: *B. melitensis*; *B. abortus*; *B. suis*; *B. canis*; *B. neotomae*; *B. ovis*; *B. ceti*; *B. pinnipediae*; *B. microti*; *B. inopinata*, из них первые четыре – представлены в МКБ-10.

Всего с 2008 по 2017 год в Омской области зарегистрирован 91 случай впервые выявленного бруцеллеза (из них: хронического - 41; острого - 22; подострого - 8; латентного – 8, резидуального – 12). Обращает на себя внимание существенное превышение хронического бруцеллеза над другими вариантами инфекции. Время риска приходится на 2008-2010 годы.

Бруцеллез у людей регистрировался в 21 из 32 районов области и в г. Омске. Наиболее неблагополучные по бруцеллёзу людей за анализируемый период являются Любинский, Исилькульский, Одесский, Тюкалинский районы, с наибольшим количеством предприятий молочной и мясной промышленности. Группами риска являются люди, контактирующие с больными животными. Наиболее подвержены заболеванию лица в возрасте от 40-59 лет. На территории Омска и Омской области диагностику бруцеллёза осуществляет «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций», где проводится серологическая диагностика и определение антигенов возбудителя. ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» проводит бактериологическое исследование.

С целью выявления наиболее эффективных методов лабораторной диагностики бруцеллеза с учетом эпизоотолого-эпидемиологической ситуации в Омске и Омской области за 2008-2017 гг. было обработано 407 учетных документов и историй болезни. В работе использовались: карты эпизоотологического обследования очагов 2008-2017гг; отчетные статистические данные Управления Роспотребнадзора по Омской области, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Омской области»; Главного управления ветеринарии Омской области (2008-2017гг.); данные информационного бюллетеня Референс-центра по мониторингу за возбудителями бруцеллеза ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора; данные лабораторных методов исследования за 2008-2017гг.

При диагностике острого бруцеллёза лабораторно обследованы 22 человека. В реакциях Райта и Хеддлсона получено 100% резко положительных результатов. При этом проба Бюрне была положительна в 9,1% случаев. Метод ИФА использовался только при обследовании 5 человек, из них Ig M выявлялись у 2 пациентов, антитела классов Ig M+Ig G – у 2-х человек; только Ig G – у 1 пациента. Бактериологически бруцеллёз подтверждён был в 14 случаев из 22. Материалом для бакисследования служила кровь больных, откуда и были выделены *B. melitensis*. Биоматериалы ни всех пациентов исследовались в ПЦР (из 22 человек обследовано 14). ДНК бруцелл была обнаружена в 2-х случаях, в 12 случаях - результат был отрицательным, что, возможно связано с неправильным определением локализации возбудителя и ошибками при

взятии материала. Для серологической диагностики использовались тестовые системы «ЭКОлаб» и «Вектор»; для молекулярно-генетической диагностики - тест-системы «GenPAK».

Диагностика подострого бруцеллеза у восьми пациентов проводилась с помощью реакций Райта и Хеддлсона, по их положительным результатам. Методом ИФА данных больных не обследовали. Бактериологические исследования крови от этих пациентов были отрицательные. Проба Бюрне проводилась только у одного пациента и была расценена как положительная.

Необходимо отметить, что чувствительность реакции Райта составила 51,5%, специфичность 90,5% при диагностическом титре разведения сыворотки 1:100 и выше, с учётом положительной реакции агглютинации не менее 2+. Положительные и резко положительные результаты реакции Райта и Хеддлсона регистрировались чаще в группе больных хроническим, чем резидуальным бруцеллезом.

Большой удельный вес положительных и резко положительных результатов кожно-аллергической пробы Бюрне также достоверно чаще регистрировался у больных хроническим бруцеллезом, чем с резидуальным.

По результатам ИФА выявлено, что наибольший удельный вес положительных ответов серологических тестов регистрировался при хроническом бруцеллезе, где диагностическим титром считается разведение сыворотки более чем 1:400. Рутинные методы диагностики при этом сохраняют свою актуальность и возможность их применения на практике, несмотря на меньший процент положительных результатов в реакциях Хеддлсона и Райта.

Актуальность использования в диагностике бруцеллёза ПЦР неоспорима. Так при обследовании лиц с помощью ПЦР в очагах бруцеллеза позволили выявить пациентов, у которых отсутствовали явные клинические признаки заболевания, а при исследовании крови методом ПЦР в 100% случаев была выявлена ДНК бруцелл. В реакциях Райта и Хеддлсона выявлялись антитела в диагностических значениях. У 2-х пациентов из крови была выделена культура *V. melitensis*.

Из регламентированных методов лабораторной диагностики бруцеллёза, метод ПЦР применялся реже всего, а если и использовался, то не всегда успешно. При отборе образца для ПЦР необходимо учитывать тропность возбудителя и стадию инфекционного процесса; брать образец из той локализации, где концентрация возбудителя в данный момент максимальна, что на практике не всегда возможно.

Выводы:

- Несмотря на наблюдаемую положительную динамику снижения случаев заражения бруцеллезом в РФ, данная проблема остается актуальной, требует постоянного контроля и профилактики, а также наблюдения работников, находящихся в группе риска заражения бруцеллезом.
- Показатели инцидентности по Омской области были значительно выше аналогичных показателей по СФО и РФ в целом, а пик заболеваемости приходился на 2008 – 2010 годы.
- Группами риска по бруцеллезу являются люди, контактирующие с больными животными, в возрасте от 40-59 лет, проживающие в г. Омске, а также на территории Иссилькульского и Любинского районов.
- Из клинических форм на территории Омска и Омской области, преобладает хронический и резидуальный бруцеллез.
- Положительные результаты ИФА при хроническом бруцеллезе регистрируются в 1,8 раза чаще, чем при резидуальном.
- Наряду с ИФА, остаются актуальными в диагностике Реакции Хеддлсона и Райта.
- Метод ПЦР редко использовался в лабораторной диагностике бруцеллёза. ПЦР была наиболее информативна (100%) при обследовании контактных в очаге (ещё до начала клинической манифестации заболевания). При постановке и учёте результатов ПЦР необходимо учитывать показания и алгоритм использования ПЦР на разных стадиях инфекционного процесса при бруцеллезе.
- Для точной постановки эпидемиологического диагноза, своевременного лечения пациентов, проведения противоэпидемических мероприятий, требуется выполнение методов лабораторной диагностики бруцеллеза, регламентированных МУК 3.1.7.3402-16

и использование комплекса лабораторных исследований в динамике с привлечением агглютинационных тестов, ИФА, ПЦР, пробы Бюрне.

## ОЦЕНКА АНТИСИНЕГНОЙНОЙ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИОФАГОВ

Л.Т.Баязитова<sup>1,2</sup>, О.Ф.Тюпкина,<sup>1</sup> Т.А.Чазова<sup>1</sup>, С.Б.Мосихин<sup>3</sup>  
М.В.Целищева,<sup>2</sup> К.Н.Сюзев<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии»  
Роспотребнадзора,  
Казань

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, г. Казань, Россия

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО "Казанский (Приволжский) федеральный университет", Россия, г. Казань,  
Россия

Синегнойная палочка признается многими исследователями одной из значимых микроорганизмов в современной клинической микробиологии. Принадлежность к ESKAPE-патогенам (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp*), широкое распространение на объектах внутрибольничной среды, обладание уникальными механизмами антибиотикоустойчивости диктуют необходимость мониторинговых исследований за вирулентными свойствами и профилем чувствительности к антимикробным средствам [1,2].

*Pseudomonas aeruginosa* – грамотрицательные бактерии, обладающие значительным вирулентным потенциалом. Нарастающая устойчивость синегнойной палочки к известным антимикробным препаратам заставляет клиницистов искать новые средства для этиотропной терапии [3]. В последние годы фаготерапия оценивается как альтернативное средство этиотропного лечения и профилактики бактериальных инфекций [4]. Есть определенные преимущества и недостатки фаговой терапии. Одним из недостатков является риск формирования фагорезистентности к патогенами или способствование появлению нечувствительных к фагам бактериальных штаммов [5]. В настоящее время бактериофаги - одни из самых распространенных и разнообразных микроорганизмов, что обусловлено их высокой адаптацией к условиям окружающей среды. Для выбора бактериофагов в качестве адекватных лечебно-профилактических препаратов важно оценить отношения фаг-хозяин.

**Цель исследования:** оценка профиля чувствительности к антимикробным препаратам: антибиотикам, химиопрепаратам и бактериофагам изолятов *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных с наружных слуховых проходов у пациентов с наружным отитом.

**Материалы и методы.** Проведено микробиологическое исследование биоматериала с наружного уха (n=342). Использовали питательные среды: 5 % кровяной, мясопептонный, Сабуро, желточно-солевой агар, Эндо. Идентификацию микроорганизмов осуществляли согласно действующим нормативным документам. Для определения чувствительности использованы: Пиобактериофаг поливалентный очищенный (смесь стерильных очищенных фильтратов фаголизатов бактерий *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*) и Интестибактериофаг жидкий (смесь стерильных фильтратов фаголизатов *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexneri* 1, 2, 3, 4, 6 сероваров, *Shigella sonnei*, *Salmonella paratyphi A*, *Salmonella paratyphi B*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella infantis*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella oranienburg*, *Salmonella enteritidis*, энтеропатогенной *Escherichia coli* различных серогрупп, наиболее значимых в этиологии энтеральных заболеваний, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*). Проведено определение чувствительности изолятов к антимикробным препаратам с использованием диско-диффузионного метода согласно клиническим рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» Версия-2015-02. Чувствительность штаммов, выделенных в 2013-2014 гг., на тот момент определялась в соответствии с МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам». Чувствительность к

бактериофагам (интести -бактериофагу и пио -бактериофагу) определяли с помощью спот- метода (метод пятна).

**Результаты.** В микробиоте наружных слуховых проходов у больных с наружными отитами рост *Pseudomonas aeruginosa* наблюдался у 29,8% пациентов, как в монокультуре, так и в составе полимикробных и микробно-грибковых ассоциаций. В качестве компонента в бактериальных и бактериально-грибковых ассоциациях доля синегнойной палочки составила 12,8 %. Рост синегнойной палочки из отделяемого уха в составе ассоциации с кандида-флорой наблюдался у 9,7% больных. Колонизация синегнойной палочкой регистрировалась у пациентов с частыми рецидивами наружного отита. Как правило, наружные отиты синегнойной этиологии трудно поддаются антимикробному лечению, в связи с неэффективностью оториноларингологи вынуждены подбирать комбинацию антисинегнойных лекарств.

Получены следующие результаты оценки спектра антибиотикочувствительности отопатогенных штаммов синегнойной палочки: отмечено снижение чувствительности к карбапенемам: к меропенему были чувствительны 57,3% штаммов, к имипенему- 62,3% штаммов). Доля изолятов *P. aeruginosa*, чувствительных к ципрофлоксину, составила 54,6%., к левофлоксацину-56,5%. Цефалоспорины сохраняют активность в отношении *Pseudomonas aeruginosa*: 71,6% изолятов чувствительны к цефоперазону; 73,0% – к цефепиму, цефтазидим оказал бактериоцидное действие в отношении 74,3% изолятов. Уровень чувствительности к бактериофагам: 78,6% штаммов *Pseudomonas aeruginosa* лизировались интестибактериофагом; 75,7 % - пиобактериофагом.

**Заключение.** *Pseudomonas aeruginosa* остается достаточно распространенным микроорганизмом, который выделяют из отделяемого наружного уха от пациентов с наружными отитами. Учитывая полученные данные о характере отопатогенов, о вероятности ассоциативного роста *P. aeruginosa* в составе бактериальной и бактериально-грибковой микробиоты наружного уха необходимо не только своевременное выделение и идентификация микроорганизмов из клинического материала, но и определение дополнительных характеристик, к которым можно отнести определение фенотипов устойчивости к антимикробным препаратам, оценку профиля чувствительности к бактериофагам. Использование бактериофагов для фаготерапии и фагопрофилактики позволяет оптимальным образом осуществить селективную деконтаминацию, так как внутриклеточно репродуцирующиеся бактериальные вирусы (бактериофаги) вызывают избирательный лизис патогенных и условно-патогенных бактерий. В отличие от химиотерапевтических препаратов бактериофаги осуществляют специфическое направленное действие строго в отношении соответствующих микроорганизмов, не причиняя вреда нормальной микрофлоре.

Список литературы.

1. TreepongP., KosV.N., GuyeuxC., etal. Global emergence of the widespread *Pseudomonas aeruginosa* ST235 clone. Clin MicrobiolInfect. 2018;24(3):258-266.
2. Breidenstein E.B., de la Fuente-Nunez C., Hancock R.E. *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance. Trends Microbiol. 2011;19(8):419-426.
3. ЧеботарьИ.В., БочароваЮ.А., МаянскийН.А. Механизмырезистентности *Pseudomonas aeruginosa* кантибиотикамиихрегуляция. Клиническаямикробиологияиантимикробнаяхимиотерапия. 2017;19(4):308-319).
4. Qadir M.I. Review: phage therapy: a modern tool to control bacterial infections. Pak J Pharm Sci. 2015 Jan;28(1):265-70
5. Yacoby I, Bar H, Benhar I. Targeted drug-carrying bacteriophages as antibacterial nanomedicines. Antimicrob Agents Chemother. 2007 Jun;51(6):2156-63.

## О КОЛОНИЗАЦИИ КОНЬЮНКТИВАЛЬНОЙ ПОЛОСТИ *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* У ДЕТЕЙ С БЛЕФАРОКОНЬЮНКТИВИТАМИ

Л.Т.Баязитова<sup>1,2</sup>, О.Ф.Тюпкина<sup>1</sup>, Т.А.Чазова<sup>1</sup>, Ю.А.Тюрин<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии»

Роспотребнадзора, Казань

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, г. Казань, Россия

**Актуальность.** В настоящее время возросла роль условно-патогенной микрофлоры, контаминирующей слизистые оболочки, в качестве этиологически и патогенетически значимой микрофлоры при многих заболеваниях. По данным отечественных исследователей, в структуре бактериальных поражений глаз у детей до 5 лет конъюнктивиты составляют до 30% [1]. «Барьерной» тканью глаз является конъюнктива, выстилающая внутреннюю поверхность век и покрывающая глазное яблоко. Конъюнктива - прозрачная оболочка, образованная многослойным эпителием, отличается высокой васкуляризацией. На слизистой оболочке глаз находится большое количество бокаловидных клеток, иммуннокомпетентных (тучные клетки, лимфоциты, гранулоциты) и дендритных клеток (клетки Лангерганса) [2]. Интактные эпителиальные клетки роговицы и конъюнктивы являются естественными преградами для микроорганизмов. Содержимое конъюнктивальной полости обладает достаточно высокой антимикробной активностью. Антибактериальное действие слезной жидкости обусловлено содержанием иммуноглобулинов, компонентов комплемента, лактоферрина, лизоцима и бета-лизина; что в сочетании с функцией век снижает бактериальную контаминацию поверхности глаз. Формирование инфекционно-воспалительных заболеваний конъюнктивы у детей происходит вследствие ослабления местного иммунитета; либо как осложнение острых респираторных вирусных инфекций. Значительная частота и распространенность у детей бактериальных конъюнктивитов, дакриоциститов, особенно хронических, и сложности в их лечении связаны с ростом резистентности микроорганизмов к современным противомикробным препаратам. Необходимо учитывать, что немногие препараты, традиционно используемые в таких случаях у взрослых, разрешены к применению у детей, особенно раннего возраста. Важным фактором, способствующим формированию хронических форм конъюнктивита, является общность микрофлоры сообщающихся слизистых - конъюнктивы и слизистой носа и зева. Кроме того, у больных с хроническими формами бактериальных конъюнктивитов наблюдается медленный ответ организма на местную антибиотикотерапию [3,4]. В связи с этим выбор оптимального антибактериального препарата для проведения адекватной антибиотикотерапии остается весьма актуальным.

**Цель исследования.** Изучение структуры этиологически значимой микрофлоры конъюнктивальной полости у детей с бактериальными блефароконъюнктивитами; определение профиля резистентности микроорганизмов к антимикробным препаратам.

**Материалы и методы.** Проводилось микробиологическое исследование биоматериала – отделяемого конъюнктивальной полости, содержимого носоглотки и микрофлоры задней стенки глотки 59 детей с 1 года до 10 лет. Биоматериал забирали тампон-зондами с транспортной средой Амиеса. С целью повышения результативности бактериологического исследования строго соблюдались следующие принципы: дети не получали антимикробные препараты 14 дней до момента обследования; с момента забора биоматериала до посева на питательные среды проходило не более 3 часов. Материал высевали на питательные среды: Columbia agar Base («Conda», Испания) с добавлением 5 % крови, желточно-солевой агар, тиогликолевый бульон, Эндо. Посевы инкубировали в CO<sub>2</sub> – инкубаторе 24 часа. Фенотипическую идентификацию *S. pneumoniae* проводили на основании морфологических, культуральных данных. Для дифференциальной диагностики использовали оптохиновый тест, лизис в присутствии солей

желчи. Идентификация бактерий рода *Staphylococcus* основывалась на совокупности морфологических, культуральных и биохимических признаков. Чувствительность к антибактериальным препаратам исследовалась согласно Клиническим рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (версия 2015 г). Молекулярное серотипирование штаммов *S. pneumoniae* методом мультиплексной ПЦР (МППЦР) изучалось с использованием праймеров наиболее значимых в эпидемиологическом аспекте серотипов (ООО «Синтол», Россия).

**Результаты.** По данным анализа результатов микробиологического обследования выявлено, что доминирующей микрофлорой является грампозитивные кокки. Бактерии рода *Staphylococcus spp* выделены у 74,3% пациентов; в том числе коагулазонегативные стафилококки - в 63,4% случаях; *Staphylococcus aureus* - у 10,9% детей. Обнаружен рост *Streptococcus pneumoniae* у 17 детей (28,8%), у 7 пациентов – в монокультуре; степень обсемененности – 103-103 КОЕ/мл. У 10 детей выявлен ассоциативный характер микробиоценоза конъюнктивальной полости – сочетание *Streptococcus pneumoniae* с коагулазонегативными стафилококками. При этом у 5 пациентов пневмококки колонизировали и конъюнктивальную полость, и носоглотку одновременно. Анализ спектра чувствительности конъюнктивальных пневмококков (n=29) показал, что наиболее эффективным препаратом оказался тобрамицин (чувствительность 89,6%). Высокая антипневмококковая активность зарегистрирована у фторированных хинолонов: к офлоксацину были чувствительны 86,2% изолятов, к левофлоксацину – 86,2%. Менее эффективным оказался гентамицин (75,8%). Доли чувствительных к хлорамфениколу и тетрациклину изолятов составили 68,9% и 65,5% соответственно. Было проведено определение серотиповой принадлежности штаммов пневмококков. Результаты серотипирования 5 штаммов *Streptococcus pneumoniae*: 2 изолята отнесены к серотипу 6А, 2 изолята – к серотипу 19А и 1 штамм – к серотипу 33F. Анализ антибиотикочувствительности стафилококковой микрофлоры показал: 95 % штаммов чувствительны к фузидовой кислоте; 87,2 % - к левофлоксацину; 72,5%- к ципрофлоксацину; 70,5% - к хлорамфениколу. Высокую антистафилококковую активность проявляют гентамицин (78,4%) и тобрамицин (70,9%). Тетрациклин и эритромицин наименее активны в отношении *Staphylococcus spp*: 52,4% чувствительны к тетрациклину, 29,7% чувствительны к эритромицину.

**Заключение.** Проведенные исследования показали, что в этиологической структуре возбудителей бактериальных блефароконъюнктивитов преобладает кокковая грамположительная микрофлора: бактерии рода *Staphylococcus spp* и *Streptococcus pneumoniae*. У детей, которым проведено микробиологическое исследование в связи с заболеваниями ЛОР-органов, наблюдалась персистенция бактерий в конъюнктивальной полости и в носоглотке, что требует санации смежных биотопов. Для проведения адекватной этиотропной терапии пациентов с блефароконъюнктивитами необходимо своевременное микробиологическое обследование с оценкой профиля чувствительности к антимикробным препаратам.

Список литературы.

1. Околов И.И., Гурченко П.А., Вохмяков А.В. Нормальная микрофлора конъюнктивы у офтальмохирургических пациентов // Офтальмол. ведомости. — 2008. — Т. I, № 3. — С. 18–21
2. Mondal S.K. Mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma in conjunctiva // Ind J. Pathol. Microbiol. — 2008. — Vol. 51, N 3. — P. 407–408.
3. Воронцова Т.Н., Бржеский В.В., Ефимова Е.Л., Прозорная Л.П., Михайлова М.В., Крепких Е.М. Микрофлора конъюнктивальной полости и ее чувствительность к антибактериальным препаратам у детей в норме и при некоторых воспалительных заболеваниях глаз // Офтальмол. ведомости. — 2010. — Т. III, № 2. — С. 61–65.
4. Kirkwood B. J. Normal flora of the external eye // J. Amer. Sci. Ophthal. Regist. Nurs. — 2007. — Vol. 32, N 1. — P. 12–13



## ОСОБЕННОСТИ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ПАЦИЕНТОВ С ОГРАНИЧЕННЫМИ ВОЗМОЖНОСТЯМИ

*Д.К.Гайнуллина, А.Б.Абдрашитова*

ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, г. Казань

В Республике Татарстан санация рта пациентам с ограниченными возможностями представляет определённые трудности для врача-стоматолога из-за определённых особенностей: психоэмоциональное реагирование ребёнка на манипуляции; сложности в проведении адекватного осмотра рта; невозможность проведения диагностических исследований челюстно-лицевой области (радиовизиография, ортопантограмма, конусно-лучевая компьютерная томография); отсутствие навыков общения врача-стоматолога с данной группой пациентов; отсутствие адекватного проведения гигиены рта родителем, опекуном, самим пациентом; невозможность установление окончательного стоматологического диагноза без исключения сознания. Стоматологический статус данных пациентов характеризуется первой степенью активностью кариеса по Виноградовой, неудовлетворительной гигиеной рта, наличием осложнённых форм кариеса, деминерализующей составляющей ротовой жидкости. В доступной нам специальной литературе недостаточно данных об динамичном исследовании стоматологического статуса с учетом показателей ротовой жидкости.

**Цель исследования.** Выявить особенности стоматологического статуса пациентов с ограниченными возможностями с учетом показателей ротовой жидкости.

**Материалы и методы исследования.** Объектом исследования являлись пациенты от 15 до 36 лет, которым оказывалась санация рта под общим обезболиванием. Перед санацией рта определялся стоматологический статус, после санации – биохимическое исследование ротовой жидкости, включающее активность протеолитических ферментов.

**Полученные результаты.** Определена распространенность стоматологических заболеваний у пациентов с ограниченными возможностями и соматической патологией. У исследуемых пациентов доминировал кариес дентина (K02.1), хронические формы периодонтита (K04.5), пульпит (K04.0). Низкий уровень кариеса не наблюдался ни у одного из пациентов за период исследований. В ротовой жидкости пациентов с ограниченными возможностями обнаружено от 5 до 7 фракций белков различной молекулярной массы, обладающих протеолитической активностью, принадлежащих к металлзависимым ферментам.

## РАСПРОСТРАНЁННОСТЬ МУТАЦИЙ ВИРУСА ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ВИРУСА ГЕПАТИТА В В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

*Е.Л.Гасич<sup>1</sup>, В.Ф.Еремин<sup>2</sup>, А.С.Гудель<sup>1</sup>, А.С.Бунас<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии», Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий», Минск, Беларусь

**Введение.** Вирус гепатита В (ВГВ) является причиной острых и хронических гепатитов, приводящих к развитию таких тяжелых проявлений как цирроз и рак печени с высоким риском летальности. Для лечения пациентов используются стандартные схемы лечения, включающие применение комбинации противовирусных препаратов с интерферонами, которые должны подавлять репликацию вируса. В тоже время важной проблемой их применения является развитие лекарственной устойчивости вследствие мутаций вируса, приводящей к отсутствию устойчивого вирусологического ответа, реактивации инфекции и обострению заболевания. Мутации лекарственной устойчивости связаны прежде всего с заменами в высоко консервативном мотиве

YMDD –Y (тирозин)- M (метионин)- D (аспартат)- D (аспартат) С домена полимеразы ВГВ. Раннее выявление лекарственной устойчивости у пациентов, длительно применяющих аналоги нуклеот(з)идов, позволит выбрать тактику ведения пациентов и оптимизировать схемы лечения.

**Цель исследования.** Изучение распространённости мутаций лекарственной устойчивости ВГВ к аналогам нуклеот(з)идов у пациентов с хронической формой инфекции.

**Материалы и методы.** В исследование включено 613 последовательностей, секвенированных по Р гену ВГВ. Вирусная ДНК выделена из сывороток/плазмы крови пациентов, собранных в период с 2008 по 2018 годы в разных регионах Республики Беларусь. Амплификацию выполняли методом «гнездовой» in house PCR. Прямое секвенирование проводили на автоматическом секвенаторе 3100 GeneticAnalyzer (AppliedBiosystems, США). Биоинформационный анализ проводили с помощью программ «BoiEditv.7.2.5», «SeqA6», «SeqScapev.3», «Megav.6». Определение генотипов/подгенотипов ВГС и поиск генетически близких референсных последовательностей, полученных из международной базы данных GenBank (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), осуществлялось методами филогенетического анализа. Филогенетические деревья строились с применением алгоритма ML (maximum likelihood) в программе PHYL (Phylogenetic maximum likelihood), с моделью замены нуклеотидов GTR. Оптимизация топологии дерева - Best of NNIs and SPRs. Визуализация деревьев осуществлялась в программе FigTree v.1.4.2.

Мутации лекарственной устойчивости выявляли с помощью программgeno2pheno (<https://www.geno2pheno.org>) и HBV-Grade (<http://www.hbv-grade.de>).

**Результаты исследования.** Среди исследуемых образцов 110 (17,9%) относились к генотипу А, представленному А2 подгенотипом; 496 – к D генотипу (80,9%); 5 – к С генотипу (0,8%), представленному С2 подгенотипом. В двух случаях выявлены рекомбинантные формы вируса – А/D/С и D/A (0,4%). D генотип включал подгенотипы: D1 (16,5%, n=102); D2 (38,0%, n=233); D3 (26,1%, n=160); D4 (0,3%, n=1).

При анализе нуклеотидных последовательностей гена полимеразы определены клинически значимые мутации в 17 образцах ДНК ВГВ (2,8%), выделенных из плазмы крови от пациентов, получающих и не получающих лечение аналогами нуклеот(з)идов. В 10 случаях выявлены замены в позициях rtL180M+rtM204V (1,6%), в 2-х – замены в трех позициях rtV173L+rtL180M+rtM204V (0,3%); и по одному случаю rtI181T (перекрестная резистентность к ламивудину, телбивудину), rtM204V (перекрестная резистентность к ламивудину, энтекавиру, телбивудину), rtN236T (резистентность к адефовиру), rtL233V (резистентность к адефовиру), rtL80I+rtL180M+rtM204Vсоответственно. Частота встречаемости мутантных вариантов вируса варьировала от 1,7% до 2,7% для А2, D2, D3 подгенотипов ВГВ. Частота выявления мутантных форм оказалась несколько выше для D1 подгенотипа ВГВ – 5,9%.

**Заключение.** Полученные в ходе проведения исследований данные свидетельствуют, что почти 2% пациентов являются носителями лекарственно устойчивых вариантов вируса. В большинстве случаев наблюдаются аминокислотные замены в позициях rtL180M, rtM204V, ассоциирующиеся с лекарственной резистентностью к ламивудину, энтекавиру, телбивудину.

Применение современных молекулярно-генетических методов исследований позволяет проводить полноценный скрининг на лекарственную резистентность у пациентов с острой и хронической формами ВГВ, результаты которого необходимы для выбора персонифицированной схемы лечения и контроля за появлением резистентности в течение всего периода лечения.

# ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИКВОРА У ПАЦИЕНТОВ БОЛЕЗНЬЮ ЛАЙМА С ПОРАЖЕНИЕМ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

С.А.Дракина, О.С.Залевская, В.В.Щерба, Л.А.Анисько, Н.С.Верещако,  
С.О.Вельгин, А.Г.Красько

ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии»  
Министерства здравоохранения Республики Беларусь, г. Минск.  
ГУ «Городская клиническая инфекционная больница» Министерства здравоохранения  
Республики Беларусь, г. Минск.

Болезнь Лайма – стадийное заболевание и заключительной стадией является стадия органных поражений, представляющая значительные трудности для диагностики, поскольку после присасывания клеща или зараженной личинки может быть временной интервал от нескольких месяцев до 5 лет и более. До 30% от заболевших болезнью Лайма (ЛБ) составляют пациенты с поражением нервной системы (НБ - нейроборрелиоз). Для нейроборрелиоза в ранней диссеминированной стадии характерно развитие асептического менингита, радикулопатий, одно- или двустороннего радикулоневрита лицевого нерва, синдром Баннварта. Наиболее серьезные поражения с клинической точки зрения характерны для позднего нейроборрелиоза. Данное состояние часто протекает в виде рассеянного энцефаломиелита либо подострой Лайм-энцефалопатии, гораздо реже встречаются поражения периферической нервной системы, васкулита сосудов ЦНС, синдромов, имитирующих болезнь моторного нейрона, экстрапирамидных нарушений и т.д. [1]. Нередко нейроборрелиоз протекает под «маской» рассеянного склероза [2]. В связи с этим исследование ликвора является первостепенным в постановке диагноза. Выделение ДНК *Borrelia burgdorferis.l.* из ликвора является прямым доказательством НБ, однако выявить генетический материал боррелий удаётся не всегда. При отрицательных данных полимеразной цепной реакции (ПЦР) диагноз можно подтвердить обнаружением интратекальных антител в ликворе. Наличие специфических к боррелиям антител свидетельствует в пользу активного инфекционного процесса в ЦНС [3]. Значительный интерес для практического здравоохранения наряду с выявлением интратекальных антител представляет исследование ликвора на содержание цитокина CXCL13 [4]. Высокий уровень цитокина CXCL13 при отрицательных результатах исследований сыворотки крови на ЛБ, отрицательных результатах ПЦР и отсутствии интратекальных антител может указывать на НБ. Однако эти предположения требуют дополнительного исследования.

Нами обследовано 26 пациентов с поражением нервной системы. Все пациенты указывали на присасывание клещей. Период от момента присасывания клещей до заболевания составил от нескольких недель до 5 лет. У 10 пациентов диагностирован менингит, сочетанное поражение менингеальных оболочек и периферической нервной системы (синдром Баннварта) – у 8, поражения ЦНС – у 8 (менингоэнцефалит – 2, энцефалит -1, миелополиневропатия – 1, энцефалопатия – 3, энцефалопалиневропатия -1).

Исследован 31 образец сыворотки крови и 31 - ликвора. Образцы сыворотки крови исследовались на наличие антител к *Borrelia burgdorferis.l.* методами нРИФ, ИФА и подтверждались в иммуноблоте, образцы ликвора – методом ПЦР, выявление синтеза интратекальных антител и содержание цитокина CXCL13 - методом ИФА. Для оценки проницаемости ГЭБ использовали метод выявления сывороточного альбумина фотометрическим методом с бромкрезоловым зеленым. Для выявления ДНК боррелий использовали наборы РеалБест *Borrelia burgdorferis.l.* (CFx96) (кат. № D-1498), производимых АО «Вектор-БЕСТ», (г. Новосибирск, РФ), согласно прилагаемой инструкции. Определение антител (IgM и IgG) к ЛБ в нРИФ проводили с использованием тест-системы «НИФМ-ЛАЙМ-АТ», рег. номер МН-7.113927/7.002-1003, производимой РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (г. Минск, Беларусь), согласно прилагаемой инструкции. Определение антител (IgM и IgG) к ЛБ в реакции иммуноблот проводили с использованием наборов «Лайм-блот IgM» и «Лайм-блот IgG», производимым РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (г. Минск, Беларусь), согласно прилагаемым инструкциям.

Определение антител (IgM и IgG) к ЛБ в ИФА проводили с использованием наборов «ЛаймБест-IgM» № ФСР 2012/13158 (кат. № D-1454) и «ЛаймБест-IgG» № ФСР 2009/06293 (кат. № D-1452), производимых АО «Вектор-БЕСТ» (г. Новосибирск, РФ), согласно прилагаемым инструкциям. Для выявления цитокина в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) использовали набор HumanCXCL13 (ИСД) ELISAKit (№ЕНСХСL13 (Thermoscientific, США), согласно прилагаемой инструкции.

В 9 из 11 образцов сыворотки крови от пациентов с менингитом методами нРИФ или ИФА определялись IgM, методом ИБ получено подтверждение в 5 из 7 обследованных образцов, что указывало на раннюю стадию ЛБ. Наряду с IgM, в 6 образцах выявлены IgG в незначительных титрах (1/64), наличие которых не подтверждалось ИБ. Такой результат можно объяснить началом появления иммуноглобулинов этого класса и их незначительным количеством. ДНК *Borrelia burgdorferis.l.* при исследовании всех образцов ликвора не обнаружена. Интратекальные антитела выявлены в одном из 9 образцов. В тоже время выявлены высокие уровни цитокина CXCL13 в 6 из 12 образцах: в 5 случаях - положительная корреляция с наличием IgM в сыворотке крови и в одном с наличием IgG. Лабораторное подтверждение ЛБ получено в 9 из 10 случаев.

В 9 образцах сыворотки крови от пациентов с синдромом Баннварта, IgM выявлены в 4 образцах и в 3 их наличие подтверждено в ИБ. Что касается IgG, то положительные результаты получены в 7 образцах из 9. ДНК *Borrelia burgdorferis.l.* обнаружена в 2 образцах ликвора. При исследовании интратекальных антител (4 образца) иммуноглобулины класса М не выявлены, но во всех образцах обнаружены иммуноглобулины класса G и высокий уровень содержания цитокина CXCL13. Комплексное исследование крови и ликвора позволило подтвердить ЛБ у 6 из 8 пациентов.

При исследовании 11 образцов сывороток крови от пациентов с поражением ЦНС выявлялись преимущественно IgG. Ни в одном образце ликвора (10 образцов) не обнаружена ДНК *Borrelia burgdorferis.l.* Наряду с этим в 3 образцах ликвора от 2 пациентов с диагнозом «менингоэнцефалит» и у одного с энцефалитом, выявлено высокое содержание цитокина CXCL13, что позволяет в этих случаях подтвердить диагноз ЛБ.

У пациентов с диагнозом «энцефалопатия» выявлены IgG в титрах 1/64 методом ИФА без подтверждения другими методами. Поэтому наличие положительного эпиданамнеза и результатов нРИФ или ИФА без подтверждения в ИБ специфических антител в сыворотке крови или обнаружения определенных маркеров в ликворе, не имеет достаточно оснований относить такие энцефалопатии к боррелиозным.

Таким образом, проведенные исследования указывают на значительные трудности лабораторной диагностики поражений нервной системы при болезни Лайма. Лабораторное подтверждение ЛБ должно базироваться на комплексном исследовании как крови, так и ликвора. Положительный эпиданамнез или отсутствие такового и обнаружение антител класса G в сыворотке крови не является достаточным в постановке диагноза активного процесса ЛБ. В этих случаях первостепенную роль играют исследования ликвора методом ПЦР, обнаружение интратекальных антител и высокого уровня цитокина CXCL13. Отрицательные результаты лабораторных исследований ликвора с обнаружением IgG в сыворотке крови могут указывать на перенесенный ЛБ и расценивать поражения нервной системы как постлаймовский синдром или на другую этиологию заболевания.

#### Список литературы

- 1 Соловей, Н.В. Болезнь Лайма как эндемичное заболевание для Республики Беларусь: вопросы диагностики и рациональной антибиотикотерапии / Н.В. Соловей, В.В. Щерба // Рецепт. – 2014. – Т. 94, № 2. – С. 114-127.
- 2 К вопросу о возможности течения иксодового клещевого боррелиоза под «маской» рассеянного склероза (клинический и иммунологический аспекты) / А.В. Субботин [и др.] // Медицина в Кузбассе. – 2008. – № 5. – С. 145-148.
- 3 Ljøstad, U. Clinical usefulness of intrathecal antibody testing in acute Lyme neuroborreliosis / U. Ljøstad, T. Skarpaas, A. Mygland // Eur. J. Neurol. – 2007. – Vol. 14, No. 8. – P.873-876.

4 Tjernberg, I. Laboratory Diagnosis of Lyme Borreliosis. Anti-Borrelia Antibodies and Chemokine CXCL13: Doctoral thesis / I.Tjernberg; Linköping University Medical Dissertations No. 1222. – Linköping, Sweden, 2011. – 102 pp.

## РАЗВИТИЕ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ВЕТРЯНОЙ ОСПЫ ВО ВРЕМЕНИ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

*А.М.Дронина<sup>1</sup>, Т.С.Гузовская<sup>2</sup>, Е.О.Самойлович<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии»  
Министерства здравоохранения Республики Беларусь, г. Минск, Беларусь

<sup>2</sup>ГУО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь

Ветряная оспа занимает ведущие позиции в структуре инфекционной патологии в Республике Беларусь, в 2018 году было зарегистрировано 75038 пациентов (791,4 на 100000 населения), в том числе около 3000 случаев среди лиц старше 15 лет. Отмечающееся после первичного инфицирования вирусом ветряной оспы пожизненное персистирование вируса в чувствительных ганглиях с периодической реактивацией, обуславливающее развитие вторичной эндогенной инфекции, так называемого опоясывающего лишая, приводит к появлению дополнительных источников инфекции ветряной оспы. Больные опоясывающим лишаем в Республике Беларусь не подлежат специальному учету, поэтому их точное число не известно. По-прежнему открыт вопрос о количественных характеристиках эпидемического процесса, установление которых поможет выявить социально-возрастные группы, наиболее вовлекаемые в эпидемический процесс, спрогнозировать эпидемическую ситуацию. Остается неизвестным, какая часть детей рискует заразиться от первичных форм ветряной оспы, а какая от лиц с опоясывающим лишаем. Поскольку заболеваемость ветряной оспой в Республике Беларусь является высокой, инфекция регистрируется не только у детей, но и у лиц 18 лет и старше, можно предположить, что, несмотря на высокую заболеваемость детей, и среди взрослых достаточно часто встречаются лица, неиммунные в отношении этой инфекции. Появляется риск заражения во время беременности и возникновения трансплацентарной передачи вируса с последующим формированием тяжелых форм заболевания, которые требуют сложных и дорогостоящих методов диагностики и лечения. По данным Европейского регионального бюро ВОЗ на 2017 г. вакцинация против инфекции внедрена в национальные календари прививок 10 стран региона, вакцинация групп риска в 17 странах, в Республике Беларусь не внедрена [3,5,6].

Цель исследования – установить количественные характеристики многолетней динамики заболеваемости ветряной оспы в стране за длительный отрезок времени.

Материалом явились данные о 2 913 302 случаях заболевания, зарегистрированных на территории Республики Беларусь в 1960 - 2018 гг. (уч.ф.01 - годовая, ф.060-у, ф. 357-у). Проведено сплошное, ретроспективное, продольное эпидемиологическое исследование с помощью дескриптивных методов. Для исключения влияния случайных факторов динамические ряды проверяли на «выскакивающие» величины по критерию Шовене. Проявления эпидемического процесса на количественной основе оценивали по интенсивности и многолетней динамике. Оценивали динамику заболеваемости с учетом аппроксимирующих кривых и коэффициента детерминированности  $R^2$ . Многолетнюю тенденцию заболеваемости определяли методом наименьших квадратов по параболе 1 порядка и оценивали по направлению и среднему темпу прироста (Тпр). Цикличность эпидемического процесса в Республике Беларусь оценивали по отношению к параболе 6 порядка, в регионах – параболе 1 порядка, определяли количество, продолжительность, амплитуды периодов. Достоверность различий между показателями или средними величинами определяли по критерию t Стьюдента. Доверительные интервалы (ДИ) определяли методом Клоппера-Пирсона. Интенсивные показатели представлены как ‰ [ДИ 95%].[1,4].

Результаты. При оценке проявлений эпидемического процесса на качественной основе следует отметить, что заболеваемость ветряной оспой является типичной для территории республики и регистрируется на спорадическом уровне. Ветряная оспа входит в группу наиболее распространенных инфекционных болезней в Беларуси с уровнями заболеваемости от 100 до 1000 ‰.

В условиях естественного развития эпидемического процесса распределение заболеваемости ветряной оспой находилось в пределах: от 244,0‰ (1962 г.) до 817,8‰ (2012 г.). Минимальный и максимальный показатели различались в 3,4 раза. Среднегодовой показатель составил 511,1‰ [95% ДИ: 506,6; 515,8]. Постояннодействующие факторы сформировали умеренную прямолинейную тенденцию к росту, которая характеризовалась темпом прироста 1,21% ( $y = 6,176x + 325,9$ ;  $R^2 = 0,52$ ). Однако, учитывая визуальную оценку графика многолетней динамики и коэффициент детерминированности, наиболее точно весь отрезок времени 1960-2018 гг. характеризовался криволинейной многолетней тенденцией по параболе 6-го порядка ( $R^2 = 0,75$ ). При использовании полиномиальной аппроксимации с разложением в ряд до 6-й степени выявлен полный период многолетних колебаний (период первого порядка) заболеваемости длительностью 38 лет.

На всем протяжении времени наблюдения в многолетней динамике заболеваемости данной инфекцией на фоне периодов многолетних колебаний (периодов первого порядка) регулярно отмечались периоды второго порядка, продолжительностью от 2 до 9 лет (в среднем 4,7 года [95% ДИ: 4,0; 5,4]). Амплитуды периодов второго порядка колебались от 39,1 до 355,1‰, в среднем составили 140,3‰ [95% ДИ: 139,1; 141,5]. Фазы эпидемического благополучия длились от 1 до 7 лет, в среднем составили 2,4 года [95% ДИ: 2,0; 2,8]. Амплитуды фаз эпидемического благополучия колебались от 9,6 до 155,1‰, в среднем составили 71,5‰ [95% ДИ: 70,6; 72,4].

Амплитуды фаз эпидемического неблагополучия были более выраженными в сравнении с фазами эпидемического благополучия (средняя амплитуда составляла 75,3‰, [95% ДИ: 74,4; 76,2]), хотя по продолжительности фазы эпидемического неблагополучия и благополучия не различались (средняя продолжительность фаз эпидемического неблагополучия – 2,3 года, [95% ДИ: 1,89; 2,7]).

Циклический характер заболеваемости, который имеет периодические подъемы и спады, соответствует теории порогов современной математической эпидемиологии, объясняется накоплением критической массы восприимчивых индивидов, что дает рост заболеваемости в отдельные годы. Введение малого числа индивидов в популяцию восприимчивых не приведет к росту заболеваемости до тех пор, пока плотность или численность восприимчивых не превысит критическое значение. По мере нарастания заболеваемости в фазе подъема формируется и становится все более и более обширной прослойка иммунных лиц (за счет переболевших в текущий период подъема заболеваемости). Увеличение доли иммунных к ветряной оспе лиц в общей популяции населения приводит к исчерпанию вирулентного потенциала возбудителя и снижению заболеваемости этой инфекцией. Фаза снижения заболеваемости соответствует времени, в течение которого происходит накопление в популяции людей необходимого и достаточного количества восприимчивых к ветряной оспе лиц [2].

Заключение.

Установлены следующие количественные характеристики многолетней динамики заболеваемости ветряной оспой в Беларуси. Высокая интенсивность ЭП – 50-80 тыс. случаев в год. Многолетняя динамика характеризовалась умеренной к росту тенденцией (1,2%), среднегодовым уровнем 511,1 на 100000 населения и максимальной заболеваемостью в 817,8 на 100000 в 2012. Циклический характер эпидемического процесса характеризовался периодом первого порядка длительностью 39 лет и периодами второго порядка от 2,5 до 6 лет (в среднем –  $3,9 \pm 0,46$  года).

Список использованных источников

1. Акопов, А.С. Имитационное моделирование: учебник и практикум для академического бакалавриата / А.С. Акопов. – М.: Издательство Юрайт, 2014. — 389 с. — Серия: Бакалавр. Академический курс.
2. Андерсон, Т. Инфекционные болезни человека. Динамика и контроль: пер. с англ. / Т. Андерсон, Р. Мэй; под ред. Г.И. Марчука. – М.: Научный мир, 2004. – 784 с.
3. Prevention of Varicella: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices / Centers for Disease Control and Prevention // MMWR. – 1996. – Vol. 45, № 11 – P. 8-9.
4. Эпидемиологическая диагностика: учеб. пособие / Г. Н. Чистенко [и др.] ; под ред. Г. Н. Чистенко. – Минск : БГМУ, 2007. – 148 с.
5. European Centre for Disease Prevention and Control. Varicella vaccination in the European Union. – Stockholm: ECDC; 2015 [Electronic resource]. – 2015. – Mode of access: <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/Varicella-Guidance-2015.pdf>. – Date of access: 16.11.2019.
6. Weaver, B.A. Herpes zoster overview: natural history and incidence / B.A. Weaver // J. Am. Osteopath. Assoc. – 2009. – Vol. 109, № 6. – P. 2-6.

## **ЭПИДЕМИОЛОГИЯ И СПОСОБЫ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ВИЧ ИНФЕКЦИИ В РЕСПУБЛИКЕ КАЗАХСТАН. ВИЧ, «ПРИВЕЗЕННЫЙ» ИЗВНЕ.**

*М.У.Дусмагамбетов, С.С.Амренова, А.Мустафаева, А.И.Нугай*

НАО «Медицинский университет Астана», г. Нур-Султан, Казахстан

ВИЧ/СПИД – эпидемия XXI века. Инфекция не поддается лечению и профилактика остаётся единственным средством сдерживания эпидемии. Несмотря на доступность информации, инфекция «не сдает позиции». По данным последних исследований больше всего от ВИЧ/СПИД пострадали страны Африки к югу от Сахары, где живут 70 процентов всех 42 миллионов жителей планеты, инфицированных ВИЧ. Сегодня ВИЧ/СПИД является основной причиной смертности в этих странах и представляет огромную угрозу для развития региона.

Возникает вопрос: в чем причина роста численности больных ВИЧ-инфекцией в Казахстане, и какую часть составляет ВИЧ, «привезенный» из других стран?

Кроме распространения инфекции внутри страны немалую роль играет также ВИЧ, «привезенный» извне мигрантами или гражданами РК

В последнее время приток мигрантов в РК усиливается. Ежегодно в Казахстан приезжает более семи тысяч людей и большую часть составляют представители стран СНГ (Россия, Беларусь, Молдова, Азербайджан, Армения, Узбекистан, Таджикистан, Кыргызстан).

Проблема увеличения ВИЧ-инфицированных за счет въезжающих граждан из других государств актуальна для всего мира, а также «привозящих» из других стран гражданами Казахстана. По данным Республиканского центра по профилактике и борьбе со СПИД: ежегодно в Казахстане выявляется порядка 150-200 ВИЧ-инфицированных иностранных граждан.

По данным эпидемиологического надзора в Узбекистане и Таджикистане: распространенность ВИЧ среди людей, возвращающихся из трудовой миграции, в 2-4 раза выше, чем среди общего населения. Трудящиеся-мигранты из стран Центральной Азии сталкиваются с серьезными проблемами доступа к полной информации и услугам по профилактике, уходу и лечению ВИЧ-инфекции. Это одна из причин высоких показателей инфицирования среди мигрантов.

Восточная Европа и Центральная Азия — единственные регионы в мире, где эпидемия ВИЧ-инфекции продолжает расти. С 2010 по 2018 годы ежегодно количество новых случаев инфицирования увеличивается на 10%. В этом есть значение и эмигрантов. За прошлый год было проведено 3 миллиона добровольных тестов на определение ВИЧ-статуса среди коренного населения, где было выявлено 2800 новых случаев заболевания. Также, исследование проводилось среди иностранных граждан, и было выявлено 0,2 % случаев обследованных.

Наглядный пример инфицирования коренного населения трудовыми мигрантами: «мужчина, зная о своем положительном ВИЧ-статусе, заразил свою партнершу, а то, что женщина заражена ВИЧ, выяснилось, когда она пришла вставать на учет по беременности. По проведенному эпидрасследованию обнаружили, что ее половой партнер состоял как ВИЧ-инфицированный в базе. Подали иск в судебные органы, мужчину депортировали». И таких историй сотни.

По официальным данным, по меньшей мере 2,5% населения Казахстана уезжает ежегодно на отдых за границу. По проведенному опросу людей (100 человек) в возрасте от 18-50 лет о наиболее посещаемых странах для них, среди родственников и знакомых, мы получили существенные результаты.

Проведя анализ, можно судить о странах, которые тысячи казахстанцев посещают ежегодно, и соответственно, где казахстанцы любым из способов могут стать ВИЧ-инфицированными.

По статистике, полученной в ходе опроса, мы сделали вывод: странами, которые являются наиболее часто посещаемыми казахстанцами являются: Турция – 50%, Китай – 6%, ОАЭ – 8%, Таиланд – 25%, Америка – 11%.

Кроме того, проведя интервью у работников 2-х туристических агентств города Нур-Султан «Бархатный сезон», «Вокруг света» получили сведения о популярности среди казахстанцев таких курортных зон, как Бали (Индонезия), Маврикий, Камбоджа, Мьянма.

На примере одной из самых популярных курортных зон, разберем проблему распространения ВИЧ-инфекции.

В Индонезии проживает около 210 миллионов человек, которые принадлежат к множеству различных культур. Большинство населения – мусульмане, но многочисленные меньшинства исповедуют почти все другие основные религии. Моногамный брак и тесные отношения со всеми родственниками являются нормой. Соответственно такому многообразию населения, здесь можно найти практически любой вид человеческого поведения, включая сексуальное поведение и поведение, связанное с приемом наркотиков, которые несут с собой высокий риск инфицирования ВИЧ. В каждом обществе можно найти потребителей инъекционных наркотиков, гетеросексуалов, часто меняющих партнеров (как правило, это работники секс-бизнеса и их клиенты), и мужчин, имеющих секс с мужчинами. А ведь это самые распространенные группы населения, подверженные риску заражения ВИЧ.

Вывод и практическое значение: ВИЧ-инфекция, которая распространяется среди рабочих-мигрантов или групп, уязвимых к внутрибольничным инфекциям; работников секс бизнеса, изменивших половую принадлежность, наркоманов, или уличных детей.

По результатам исследований можно судить об этиологии ВИЧ-инфекции в Казахстане и о способах предотвращения распространения инфекции, привезенной извне, как об одной из наиболее значимой, путем доступа к полной информации и услугам по профилактике, уходу и лечению ВИЧ-инфекции.

В странах постсоветского пространства нет единого документа, который регулировал бы вопросы профилактики, диагностики лечения ВИЧ-инфицированных и их правовой статус, а также их возможности получения минимальных медицинских услуг. Мы считаем, что большим вкладом профилактики распространения ВИЧ-инфекции были бы экспресс-проверки среди всего населения страны, в результате чего, люди могли бы знать свой ВИЧ-статус. Ведь люди с положительным ВИЧ-статусом часто и не подозревают об инфицированности и могут служить источником распространения.

Одной из причин заражения ВИЧ-инфекцией служит неосведомленность. Для этого при выезде из страны, в обязательном порядке, следует раздавать брошюры об этиологии инфекции, способах заражения и профилактике. А при въезде в страну проводить экспресс тесты на определение ВИЧ-статуса.

Эпидемию СПИД можно обратить вспять только при условии расширения масштабов и объема мер по профилактике ВИЧ.



# ОЦЕНКА ОСТРОЙ И ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА *CLOSTRIDIUM* НА МОДЕЛИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Н.Ю.Жданова, Н.В.Богачева

ФГБОУ ВО «Вятский государственный университет», г. Киров

Клостридии – анаэробные спорообразующие микроорганизмы, способные осуществлять маслянокислое брожение. Среди них встречаются патогенные и сапрофитные виды. Клостридии в природе распространены повсеместно. В настоящее время род *Clostridium* применяется в промышленности (при производстве пластмасс, растворителей), биотехнологии и медицине. Клостридии могут вызывать регрессию злокачественных новообразований. Ферментативная активность отдельных представителей бактерий рода *Clostridium* обладает избирательной противоопухолевой цитотоксичностью. Вышесказанное обосновывает целесообразность использования отдельных представителей данного рода, например *Clostridium butyricum* и *Clostridium sporogenes*, для лечения рака.

**Цель работы** – оценка острой и хронической токсичности микроорганизмов рода *Clostridium* на модели лабораторных животных.

**Материалы и методы.** Для выращивания чистой культуры *Clostridium butyricum* и *Clostridium sporogenes* использовали музейные штаммы микроорганизмов, анаэроустат («Система анаэробная Марк III», Индия), термостат («Смоленское СКТБ СПУ», Россия), питательную среду – агар (ТУ 9385-058-39484474-2009) с сывороткой.

Концентрацию выросшей культуры определяли по стандарту мутности – СО БАК-10 ЕД (ОРМЕТ, Россия).

Для определения в кишечнике животных микроорганизмов рода *Clostridium* применяли средую Китта-Тароцци («БТН», Россия).

Для оценки острой токсичности использовали 30 нелинейных мышей обоего пола весом 25-35 г. Все исследования проходили с соблюдением морально-этических принципов проведения биомедицинских экспериментов на животных, сформулированными Международным советом медицинских научных обществ (CIOMS) и Хельсинкской декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (2000 г.).

Взвешивание животных проводили и корма проводили на весах («ОНАУС», США), измерение выпитой жидкости осуществляли стеклянным цилиндром.

При выделении мононуклеаров селезенки использовали центрифугу («BeckmanCoulter», США), стеклянные конические пробирки, одноканальный дозатор («Ленпипет», Россия), раствор Хенкса («ThermoFisherScientific», США), градиент плотности  $\rho=1,083$  г/мл («ПанЭко», Россия).

Подсчет мононуклеаров проводили в камере Горяева («Росмедбио», Россия), используя микроскоп («ЛОМОМикмед-2», Россия).

Для изучения фагоцитарной активности использовали дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Суспензию мононуклеаров с дрожжами выращивали на питательной среде Сабуро («ФБУН ГНЦ ПМБ», Россия).

**Результаты и обсуждения.** Для того чтобы понять возможность использования бактериального препарата на основе микроорганизмов для человека необходимо уже на первом этапе оценить его безопасность. Доклинический этап изучения двух наиболее перспективных представителей рода *Clostridium* – *Clostridium butyricum* и *Clostridium sporogenes* проводили по оценке острой и хронической токсичности на нелинейных белых мышах.

На первом этапе выращивали чистую культуру *Clostridium butyricum* и *Clostridium sporogenes* в анаэробных условиях на питательной среде – агаре с сывороткой. Пятисуточную культуру смывали с поверхности чашки Петри 0,9 % раствором NaCl. Из концентрации каждой культуры  $1 \cdot 10^9$  кл/мл делали ряд последовательных разведений клеток –  $1 \cdot 10^8$  кл/мл,  $1 \cdot 10^7$  кл/мл,  $1 \cdot 10^6$  кл/мл,  $1 \cdot 10^5$  кл/мл.

Для оценки острой токсичности использовали 15 нелинейных мышей, формируя 3 группы по 5 мышей для каждого вида микроорганизма: группа № 1 для *Clostridium butyricum*; группа № 2 для *Clostridium sporogenes*; группа № 3 – контрольная. Каждой мыши в группе № 1 и № 2 вводили суспензию микроорганизмов в определенной концентрации  $1 \cdot 10^9$  кл/мл,  $1 \cdot 10^8$  кл/мл,  $1 \cdot 10^7$  кл/мл,  $1 \cdot 10^6$  кл/мл,  $1 \cdot 10^5$  кл/мл, однократно, внутрибрюшинно по 300 мкл. В контрольной группе животным однократно внутрибрюшинно вводили стерильный 0,9 % раствор натрия хлорида.

Для оценки хронической токсичности также использовали три группы по 5 мышей, формируя их аналогично тому, как описано выше, однако в опытных группах суспензии микроорганизмов вводили в концентрации  $1 \cdot 10^9$  кл/мл по 300 мкл внутрибрюшинно, ежедневно в течение 5 дней. Контрольной группе животных вводили по 300 мкл внутрибрюшинно 0,9 % раствора NaCl.

В течение 5 дней наблюдали за мышами, оценивали их поведение, вес, питание и потребление воды. Оцениваемые физиологические показатели остались без изменений и не отличались от контрольной группы: аппетит не пропал, потребление воды не изменилось, активность животных не понизилась.

На пятый день эксперимента по оценке острой и хронической токсичности мышей подвергали эвтаназии, используя с этой целью диэтиловый эфир для ингаляционной анестезии, стерильно извлекали органы (кишечник, печень и селезенку). Кишечник и печень после извлечения помещали в эппендорф с 0,9 % раствором NaCl, селезенку – в раствор Хенкса.

Эппендорф с кишечником перед посевом взбалтывали, стерильной пипеткой забирали 0,1 мл суспензии и вносили в питательную среду Китта-Тароцци. Пробирки с содержимым инкубировали при температуре 37 °С в течение 3 суток.

Микробиологическое исследование кишечника показало, что клостридии прижились в кишечнике мышей. Об этом свидетельствовало помутнение питательной среды Китта-Тароцци. По окончании инкубации в пробирках наблюдался типичный осадок в виде хлопьев, в некоторых пробирках выявлено обильное газообразование. При окраске мазков, полученных из содержимого пробирок, по методу Грама (в модификации по Хуккеру) были выявлены грамвариабельные палочки, расположенные поодиночке, либо короткими цепочками. В некоторых мазках были видны споры. Посторонней микрофлоры не обнаружено.

Некоторые виды клостридий являются нормальными представителями микрофлоры кишечника животных. Приживаемость их в кишечнике была экспериментально подтверждена разницей концентраций микроорганизмов в контрольной и опытных группах животных. В контрольной группе концентрация микроорганизмов составила  $(4,4 \pm 0,22) \cdot 10^4$  ед/мл; после однократного введения *Clostridium butyricum* –  $(2,04 \pm 0,10) \cdot 10^5$  ед/мл, *Clostridium sporogenes* –  $(2,77 \pm 0,14) \cdot 10^5$  ед/мл; после пятикратного введения *Clostridium butyricum* –  $(16,79 \pm 0,84) \cdot 10^5$  ед/мл, *Clostridium sporogenes* –  $(11,43 \pm 0,57) \cdot 10^5$  ед/мл.

Из кусочков печени делали мазки-отпечатки на плотную питательную среду – агар с сывороткой. Для этого из эппендорфа стерильным пинцетом вынимали кусочек печени и прикладывали к среде. Культивировали при температуре 37 °С в течение 3 суток. Спустя 3 суток на поверхности чашек анализировали характер роста. Микроорганизмов рода *Clostridium* выявить не удалось. В мазках, окрашенных по методу Грама (в модификации по Хуккеру), были видны только клетки печени как при изучении острой, так и хронической токсичности.

Селезенку использовали для получения лимфоцитов и дальнейшей оценки фагоцитарной активности. После извлечения и взвешивания селезенку помещали в металлическое сито из нержавеющей стали и измельчали стерильным пинцетом, стараясь перевести в суспензию как можно большее число клеток. Полученную от каждой мыши клеточную суспензию собирали в пробирку стерильным шприцом через иголку и выпускали в центрифужную пробирку. Пробирки уравнивали до одинакового уровня раствором Хенкса и центрифугировали при режиме 1500 об/мин 10 минут. По окончании центрифугирования надосадочную жидкость удаляли. Дальнейшее разделение клеток проводили, используя градиент плотности  $\rho = 1,083$  г/мл. С этой целью в отдельную пробирку добавляли 1 мл градиента плотности и аккуратно 1:1 наслаивали на

него суспензию клеток. Содержимое пробирок центрифугировали, используя тот же режим. По окончании центрифугирования белую суспензию клеток собирали в отдельную пробирку.

Для изучения фагоцитарной активности полученных мононуклеаров в качестве генетически чужеродного объекта использовали дрожжи – *Saccharomyces cerevisiae*. Дрожжи перед посевом разводили до концентрации 0,0001 %. Параллельно с дрожжами мононуклеары раствором Хенкса разводили до концентрации  $1 \cdot 10^6$  кл/мл.

Затем 0,0001 % раствор *Saccharomyces cerevisiae* смешивали с разведенными мононуклеарами в соотношении 1:1. Полученную суспензию инкубировали при температуре 37 °C в течение 1 часа, после чего высевали на плотную питательную среду Сабуро по 0,1 мл. Засеянные чашки инкубировали при температуре 24 °C в течение 3 суток.

По результату оценки фагоцитарной активности мононуклеаров было выявлено, что *Clostridium butyricum* и *Clostridium sporogenes* стимулируют фагоцитарную активность клеток крови. Об этом свидетельствует количество колоний на чашках Петри.

При оценке острой токсичности на фоне введения *Clostridium butyricum* на чашках выросло  $96 \pm 5$  колоний, после введения *Clostridium sporogenes* –  $93 \pm 5$  колоний, в контрольной группе –  $104 \pm 5$  штук.

При оценке хронической токсичности на фоне введения *Clostridium butyricum* выросло  $68 \pm 3$  колонии, на фоне введения *Clostridium sporogenes* –  $76 \pm 4$ , в контрольной группе –  $104 \pm 5$  штук.

Из экспериментальных данных следует, что колоний в опытных группах меньше, так как фагоцитарная активность после стимуляции клостридиями в отношении дрожжей стала выше, чем у контрольной группы – произошла активация неспецифического иммунитета.

Исходя из полученных результатов оценки фагоцитарной активности, можно судить об имеющейся тенденции стимуляции неспецифического иммунитета, как при однократном, так и при многократном введении культур *Clostridium butyricum* и *Clostridium sporogenes*.

Таким образом, при оценке острой и хронической токсичности экспериментальна была доказана безопасность *Clostridium butyricum* и *Clostridium sporogenes*: клостридии хорошо приживаются в кишечнике, не оказывая отрицательного влияния на физиологические функции животных, стимулируют неспецифический иммунитет, что является положительной стороной ожидаемого противоопухолевого фармакокинетического эффекта предполагаемого к разработке препарата.

## АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ БИОГЕННЫХ НАНОЧАСТИЦ

Л.И.Зайнитдинова, Н.Вохидова, С.И.Куканова, Р.Н.Жураева, И.В.Лобанова

НИИ Микробиологии АН РУЗ, г. Ташкент, Узбекистан

В последние годы в результате широкого и, часто, неконтролируемого применения антибиотиков появилось значительное количество антибиотико-устойчивых форм патогенных микроорганизмов, что является одной из важнейших проблем в медицине. В связи с этим, возникла необходимость поиска и создания новых материалов, позволяющих решить эту проблему.

Одним из перспективных направлений в решении данной проблемы является применение препаратов серебра, и, в частности наночастиц. Антибактериальные свойства серебра известны давно [1]. Также, известно, что в наноразмерном состоянии серебро приобретает новые свойства и становится очень активным в отношении патогенной микрофлоры.

Применение активного серебра в виде наночастиц позволяет в сотни раз снизить концентрацию серебра с сохранением всех бактерицидных свойств.

Известно, что антимикробный эффект зависит как от размеров частиц серебра, так и от способа их получения.

Проявляющийся ныне интерес к развитию нанотехнологий, привел к разработке многочисленных способов получения металлических наночастиц с использованием химических и

физических методов. Однако недостатки этих способов, такие как вовлечение токсичных химических веществ и высокие энергетические потребности в производстве, затрудняют их широкое применение [4]. Альтернативным способом синтеза металлических наночастиц является использование живых организмов, таких как бактерии, грибы и растения. Это так называемый «зеленый» метод биологического производства наночастиц является перспективным подходом, который позволяет синтезировать их в водных растворах с низкими потребностями в энергии и низкой стоимостью [5].

Исходя из вышеизложенного, нами проведен первичный отбор микроорганизмов-биосинтетиков наночастиц. Как известно, выбор бактерий, способных к образованию наночастиц, определяется их устойчивостью к различным загрязнениям, в том числе тяжелым металлам, а также способностью к биосорбции металлов, т.к. считается, что способность к образованию наночастиц металлов является защитной функцией микроорганизмов [6]. Выделенные нами из загрязненных промышленных зон культуры *Bacillus subtilis* и *Pseudomonas ssp.* показали возможность образования наночастиц серебра. Образование серебряных частиц изначально фиксировали визуалью по окрашиванию растворов и биомассы в желтый и бурый цвета, характерные для НЧ серебра, и по выпадению осадка крупных серебряных частиц. Затем факт наличия наночастиц подтвержден с использованием УФ-спектроскопии и с помощью АСМ и СЭМ методов.

Проведены исследования по выявлению антимикробной активности данных биогенных наночастиц по отношению к *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Candida albicans* (использовались тест-культуры из коллекции культур микроорганизмов Института микробиологии АН РУз). Оценку антагонистической активности осуществляли на 3 сутки инкубации по диаметру стерильных зон в бактериальном газоне, образующихся вокруг лунок [7]. Показано, что наночастицы  $Ag^+$  в концентрации 100 мг/л, синтезированные бактериями *Pseudomonas ssp.*, проявляли антибиотическую активность по отношению ко всем тест-культурам (зона подавления роста патогена составляла 28–35 мм), за исключением *Candida albicans*.

Известно, чувствительность разных патогенных и непатогенных организмов к серебру неодинакова. Так, повышение концентрации до 200 мг/л также не вызвало появления бактерицидного эффекта по отношению *Candida albicans*. Полученные результаты позволили определить, что наиболее высокую антагонистическую активность полученные биогенные наночастицы проявили по отношению к *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

Результаты собственных исследований и анализ современной научной литературы демонстрирует эффективность наночастиц в роли антибактериальных агентов. Тем более, что использование серебра в виде наночастиц дает возможность значительно снизить его концентрацию по сравнению с ионной формой при этом сохраняя все антимикробные свойства. Наночастицы серебра менее токсичны по сравнению с ионной формой, что расширяет их возможный спектр применения в медицине.

#### Использованная литература

1. Савадян Э.Ш., Мельникова В.М., Беликова Г.П. Современные тенденции использования серебросодержащих антисептиков // Антибиотики и химиотерапия. 1989. № 11. С. 874–878.
2. Shrestha R., Joshi D.R., Gopali J. et al. Oligodynamic fraction of silver, copper and brass on enteric bacteria isolated from water of Kathmandu Valley // Nepal Journal of Science and Technology. 2009. V. 10. P. 189–193.
3. Арсентьева И.П., Глущенко Н.Н., Павлов Г.В., Фолманис Г.Э. Использование биологически активных препаратов на основе наночастиц металлов в медицине и сельском хозяйстве // В кн.: Индустрия наносистем и материалы: оценка нынешнего состояния и перспективы развития. – М.: Центр "Открытая экономика", 2006. 26–33.
4. Murray C.B., Kagan C.R. Synthesis and Characterization of Monodisperse Nanocrystals and Close-Packed Nanocrystal Assemblies // Annual Review of Materials Science. Volume 30. 2000. P. 545–61.

5. Pantidos N., Horsfall L.E. Biological Synthesis of Metallic Nanoparticles by Bacteria, Fungi and Plants. // J Nanomed Nanotechnol. 2014.5:233. doi: 10.4172/2157-7439.1000233
6. Pramila Khandel, Sushil Kumar Shahi. Microbes mediated synthesis of metal nanoparticles: current status and future prospects // International Journal of Nanomaterials and Biostructures. 2016. 6(1):1-24.
7. Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. Практикум по микробиологии. // М.: Издательский центр «Академия». 2005: 608с.

## РЕЗУЛЬТАТЫ МОНИТОРИНГА АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ДЕТЕЙ-НОСИТЕЛЕЙ.

А.З.Зарипова<sup>1,2</sup>, Л.Т.Баязитова<sup>1,2</sup>, О.Ф.Тюпкина<sup>1</sup>, Т.А.Чазова,<sup>1</sup>  
Ю.А.Тюрин,<sup>1,2</sup> Г.Ш.Исаева<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии»

Роспотребнадзора, Казань

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, г. Казань, Россия

Одним из наиболее распространенных возбудителей респираторных бактериальных инфекций у детей является *Streptococcus pneumoniae*. Сложность анализа распространенности пневмококковых инфекций связана с редким этиологическим подтверждением данной инфекции. Диагностика зачастую базируется на клинических данных, а подтверждение пневмококковой этиологии заболевания, как правило, проводится при менингите и бактериемии, и редко – у пациентов с острым средним отитом. Частое и необоснованное применение антимикробных препаратов самими пациентами приводит к селекции резистентных штаммов возбудителя [1]. Высокая частота бактерионосительства у детей дошкольного возраста, возможность развития инвазивных жизнеугрожающих заболеваний, недостаточная изученность истинной распространенности пневмококковых инфекций, возрастание частоты бесконтрольного приема антибактериальных препаратов в популяции и связанное с этим увеличение доли резистентных штаммов, обосновывают необходимость проведения исследований по слежению за пневмококковым бактерионосительством и микробиологическим мониторингом антибиотикорезистентности клинически значимых штаммов пневмококков [2].

Цель-изучение уровня антибиотикорезистентности назофарингеальных изолятов *S.pneumoniae*, выделенных у детей-бактерионосителей.

Материалы и методы. В исследование включены 511 штаммов *S.pneumoniae*, выделенные от часто болеющих детей с респираторными заболеваниями в возрасте от 6 месяцев до 7 лет в период с 2009 года по 2016 год; и 47 изолятов, выделенных от 200 практически здоровых детей, посещающих детские дошкольные учреждения г. Казани (2016 год). Материал высевали на питательную среду Columbia agar Base («Conda», Испания) с добавлением 5 % крови. Фенотипическую идентификацию *S.pneumoniae* проводили на основании морфологических, культуральных данных. Для дифференциальной диагностики использовали оптохиновый тест; лизис в присутствии солей желчи [3]. 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 («bioMérieux», Франция). Профиль антибиотикочувствительности изолятов изучали при помощи диско-диффузионного метода; для оценки чувствительности к β-лактамам антибиотикам использовали Е-тесты (HiComb MIC Test, «Himedia»). Минимальную подавляющую концентрацию (МПК) пенициллина и амоксициллина определяли методом Е-теста. Чувствительными считали изоляты с МПК ≤0,6 мкг/мл, нечувствительными к пенициллину – штаммы с МПК ≥0,06 мкг/мл.

Результаты. Анализ микробиоценоза носоглотки часто болеющих детей показал, что

*S.pneumoniae* высевается в 32,9% случаев, причем у 58,4% детей - в виде монокультуры; степень колонизации ( $10^4$ - $10^6$  КОЕ/мл). Пенициллинчувствительными по результатам скрининга с диском с 1 мкг оксациллина оказались 88,2% - 84,9% изолятов в зависимости от периода исследования. При анализе чувствительности к бензилпенициллину с помощью Е-тестов регистрировались штаммы с промежуточной чувствительностью (МПК 0,12-1 мг/л). В период с 2009 г по 2016 год доля чувствительных к амоксициллину штаммов уменьшилась почти на 10%: с 96,1% в 2009 году до 85,1% в 2016 г. Статистический анализ данных уровня резистентности за исследуемый период выявил статистически достоверное увеличение доли нечувствительных штаммов, начиная с 2015 г. В исследуемый период прослеживается тенденция увеличения количества изолятов, резистентных к азитромицину и кларитромицину. Так, в 2009-2011 годы выявлено 90,7% азитромицинчувствительных и 93,4% кларитромицин чувствительных пневмококков. В 2011-2012 годы отмечено снижение антибиотикочувствительности до 89,0% и 92,7 %; в 2014 году до 88,5% и 90,8%; в 2015 году до 84,7% и 89,8%; в 2016 г-78,6% и 85,1% штаммов соответственно. Сравнительный анализ данных за весь период исследования продемонстрировал статистически значимый рост резистентности к кларитромицину в 2015 и 2016 гг. Распределение численности чувствительных к фторхинолонам штаммов пневмококков: в период с 2009 по 2011 годы выявлено 78,9% ципрофлоксацин- чувствительных штаммов; за 2012-2013 годы - 74,7% ; в 2014-74,7%; в 2015 году - 73,5% штаммов, в 2016 г-72,6% , что свидетельствует о возрастании уровня резистентности за исследуемый период.

На протяжении всего исследования отмечена достаточно высокая антипневмококковая активность линкозамид (клиндамицин): выявлено 94,7 % - 91,8% чувствительных штаммов в зависимости от периода исследования. Но начиная с 2015 года отмечается статистически значимый рост количества устойчивых штаммов (относительно периода 2009-2011 гг.). Исследуемые штаммы *S.pneumoniae* были высокочувствительны к ванкомицину, не зафиксировано ни одного резистентного к ванкомицину штамма. В носоглотке часто болеющих детей обнаружены штаммы *Streptococcus pneumoniae*, характеризующиеся множественной устойчивостью к антимикробным препаратам (к 3 и более АМП)-3,8% - 9,9% в зависимости от года исследования.

Результаты проведенного нами исследования сопоставимы с результатами российских и зарубежных исследователей [4]. Так, по данным исследования ПеГАС в 2006 - 2009 годах, доля чувствительных к пенициллину изолятов составила 88,8%. Уровень устойчивости к кларитромицину составил 5,7%, азитромицину- 6,4%. Мониторинг антимикробной резистентности в странах Европы в 2012 году продемонстрировал, что доля *S. pneumoniae*, резистентных к пенициллину, варьирует от 1-5% в Бельгии, Нидерландах, Ирландии, Великобритании, Чехии; 5-10% в Германии, Австрии, Норвегия, Дании; 10-25% в Франции, Италии, Венгрии [5].

По результатам нашего исследования, уровень резистентности к амоксициллину колебался в пределах 4%-9,2%; доля резистентных к макролидам изолятов была выше и составила 9,3%-15,3% - в отношении азитромицина; к кларитромицину-6,6%-10,2%. Анализ состояния антимикробной резистентности в странах Европы в 2012 году показал, что частота выделения *S. pneumoniae*, резистентных к фторхинолонам составила 5,2%. Результаты нашего исследования свидетельствуют о возросшем уровне устойчивости к фторхинолонам (ципрофлоксацин): выделенные нами изоляты были резистентны к ципрофлоксацину в 21,5-26,5% случаев.

**Заключение.** Пневмококковые инфекции являются одним из самых серьезных для детей дошкольного возраста. Доказано, что в 90 % инвазивных пневмококк-ассоциированных заболеваний предшествующий носоглоточный штамм пневмококка играет лидирующую этиологическую роль. Учитывая довольно высокий уровень антибиотикорезистентности циркулирующих у детей-бактерионосителей штаммов пневмококков, нельзя недооценивать роль назофарингеального носительства *S. pneumoniae*.

#### Список литературы.

1. Simell B., Auranen K., Käyhty H., Goldblatt D., Dagan R., O'Brien K. L. (2012) The fundamental link between pneumococcal carriage and disease. /Expert Rev Vaccines. Vol.11.- n.7.- P.841-855.

2. Лобзин Ю.В. Серотипы *Streptococcus pneumoniae*, вызывающие ведущие нозологические формы пневмококковых инфекций/ Ю.В. Лобзин, С.В. Сидоренко, С.М. Харит, С.С. Беланов, М.О. Волкова, В.В. Гостев, С.И. Алексеенко, С.И. Петрова, Е.В. Сергеева, И.С. Королева, А.В. Орлов, Е.Я. Фролова //Журнал инфектологии. - 2013. -№ 4. - С. 36-42.

3. Laboratory Methods for the Diagnosis of Meningitis caused by *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*: WHO manual, 2nd edition; WHO/IVB.11.09; 2011 Козлов Р.С. Динамика антибиотикорезистентности *Streptococcus pneumoniae* в России (поданным многоцентрового проспективного исследования ПЕГАС 2006-2009 гг) // Клинико-микробиологический журнал. – 2010. – №4. – С.329-341.

4. Antimicrobial resistance surveillance in Europe. Surveillance report // Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network. Stockholm. 2012.– P.51-59.

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФАКТОРОВ ВИРУЛЕНТНОСТИ НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ИЗОЛЯТОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Д.А.Кабанов<sup>1</sup>, И.С.Абасева<sup>2</sup>, А.М.Марданова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) Федеральный Университет», г. Казань

<sup>2</sup> КДЛ МСЧ КФУ, г. Казань

На сегодняшний день госпитальные инфекции являются крайне распространенным явлением в сфере здравоохранения во всем мире. Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (НАИ), являются основной причиной заболеваемости и смертности среди госпитализированных больных. По данным американских исследований в США инфицируется до 15% госпитализированных пациентов. По статистике в США ежегодно фиксируется около 1.7 миллиона случаев НАИ и 99 000 случаев летального исхода. В недавнем отчете расходы системы здравоохранения США, связанные с пятью наиболее распространенными НАИ-инфекциями, оцениваются в 9.8 млрд. \$ [Septimus *et al.*, 2016].

Род *Pseudomonas* в структуре класса *Gammaproteobacteria* является таксоном, включающим в себя виды, значимые для сельского хозяйства, медицины, экологии и биотехнологии. *Pseudomonas aeruginosa* (Синегнойная палочка) – оппортунистический патоген растений, животных и человека – является важным модельным микроорганизмом и излюбленным объектом исследования в современной клинической микробиологии [Priyanka, 2017; Keller-Costa *et al.*, 2014].

Интерес к *P. aeruginosa* обусловлен тем, что изоляты этого вида способны вызывать различные нозологические формы: катетер-ассоциированные инфекции, инфекции дыхательных путей, ожоговые раневые инфекции, хирургические инфекции и пневмонию. Особенно опасны вспышки *P. aeruginosa*, наблюдаемые в отделениях интенсивной терапии [Moradali *et al.*, 2017].

Контроль, понимание и разработка превентивных мер для клинически значимых штаммов микроорганизмов невозможны без исчерпывающей информации относительно структуры инфекций в клинической практике.

**Целью работы** было оценить частоту встречаемости *P. aeruginosa* в структуре возбудителей нозокомиальных инфекций и провести сравнительную характеристику факторов вирулентности штаммов, выделенных из различных биотопов.

**Материалы и методы.** Объектом исследования были изоляты *P. aeruginosa*, выделенные из различных биотопов пациентов стационара РКБ-2. Гемолитическую активность исследовали на кровяном агаре, содержащем 5% эритроцитов человека. Чашки с посевами инкубировали в течение 24 часов при 30 и 37 °С. Гемолитическую активность оценивали путем измерения диаметра прозрачных зон (зон просветления) вокруг колоний и под ними.

Общую протеолитическую активность оценивали по гидролизу азоказеина по методу, описанному в работе [Demidyuk *et al.*, 2006].

Для характеристики цитотоксичности использовали клеточную линию диплоидных фибробластов человека Wi 38. С помощью окраски трипановым синим оценивали

жизнеспособность эукариотических клеток, а также визуально оценивали плотность монослоя после инкубации.

**Результаты и обсуждение.** Провели анализ данных по структуре возбудителей инфекций, выделенных от пациентов различных отделений стационара РКБ-2 г Казани за период 2018 г. Из 2040 бактериологических анализов 1769 анализов были положительными и в этих случаях было выделено от одного до трех изолятов возбудителей.

50% всех инфекций относятся к урологическому и нефрологическому отделению, 18% изолятов выделено от пациентов отделения гинекологии, 26% изолятов получено от больных хирургического отделения, 5% - от пациентов палат интенсивной терапии.

Таким образом, показано превалирование урологических инфекций в рамках статистики по структуре инфекций в стационаре. Это подтверждает так же статистика по этиологии заболеваний. Около 40% инфекционных заболеваний обнаружено у больных нефритом и пиелонефритом в острых и хронических формах, 25% случаев связано с мочекаменной болезнью.

33% штаммов были идентифицированы как *Escherichia coli*, около 20% штаммов относились к роду *Klebsiella*, 15% штаммов относились к роду *Staphylococcus*, преимущественно видов *S. epidermitis*, *S. aureus*, и *S. haemolyticus*.

Из всех выделенных изолятов 90 штаммов были идентифицированы как представители *P. Aeruginosa* и *Pseudomonas spp.*, что составило ~5%. Штаммы псевдомонад были выделены преимущественно от тяжелых больных и больных после операций в отделении хирургии в случае раневых и гнойно-воспалительных инфекций, в также от больных с острым пиелонефритом и нефритом, а также во время сезонных вспышек внутрибольничных пневмоний в период декабрь-февраль.

Мы провели сравнительную характеристику факторов вирулентности некоторых штаммов *P. aeruginosa*, выделенных из различных биотопов. Была исследована протеолитическая активность на 24 ч роста в культуральной жидкости пяти штаммов *P. aeruginosa* (Ur5, Ot8, Ia25, Sk28, Pn21 и Pn22) с использованием в качестве субстрата азоказеина. Среди исследованных штаммов наибольшей активностью (4.2 ед/мл) обладал штамм *P. Aeruginosa* Ia25, ассоциированный с интраабдоминальной инфекцией. Наименьшую протеолитическую активность проявил штамм *P. Aeruginosa* Sk28, ассоциированный с кожной инфекцией (0.3 ед/мл). Протеолитическая активность в культуральной жидкости штаммов *P. Aeruginosa* Ot8 и Pn21, ассоциированных с отитом и пневмонией соответственно, была на уровне 1.8 и 1.6 ед/мл активности, а у уропатогенного штамма *P. aeruginosa* Ur5 – 1.2 ед/мл.

Исследовали также влияние температуры на гемолиз кровяного агара. Для этого бактерии культивировали при 30 °С и 37 °С. Показали, что гемолиз в целом был сильнее выражен при 30 °С. Штаммы Ot8 и Pn21 проявляли гемолитическую активность при обеих температурах, но при 30 °С вокруг бактериальной колонии зона полного просветления была шире в 2 раза, чем при 37 °С. Гемолитическая активность штамма Sk28 проявлялась только при 30 °С. Штамм Ia25, ассоциированный с интраабдоминальной инфекцией, не проявлял гемолитических свойств при обеих температурах культивирования бактерий. У урологического штамма *P. Aeruginosa* Ur5 гемолитическая активность в виде слабого просветления среды под колонией проявлялась только при 30 °С.

Показали, что в отношении клеток Wi 38 высокую цитотоксичность проявили штаммы *P. Aeruginosa* Pn21 и Ia25, ассоциированными с пневмонией и интраабдоминальной инфекцией соответственно. Причем штамм *P. Aeruginosa* Pn21 достоверно оказывал крайне высокий токсический эффект во всех исследованных образцах и повторностях. Остальные исследованные штаммы (Ur5, Ot8, Sk28) проявляли низкую токсичность (гибель не более ~10-15% клеток). Интересно отметить, что наибольший повреждающий эффект на монослой (открепление клеток с подложки) оказывали штаммы *P. Aeruginosa* Ot8 и Ia25.

Таким образом, анализ структуры возбудителей стационара РКБ-2 показал, что более 53% случаев связаны с представителями двух видов энтеробактерий (*E. coli* и *K. pneumoniae*). На долю *P. Aeruginosa* приходится не более 5%, однако, эти изоляты выделяются, как правило, от пациентов с тяжелыми формами инфекции. 46% всех штаммов *P. Aeruginosa* были выделены от пациентов хирургического отделения.



Сравнительный анализ факторов вирулентности показал, что протеолитические и гемолитические свойства исследуемых нами штаммов *P. aeruginosa* слабо коррелировали с острой цитотоксичностью, то есть гибелью эукариотических клеток. В тоже время штаммы с высокой протеолитической активностью вызвали значимый повреждающий эффект в отношении клеточного монослоя, способствуя откреплению клеток и их элиминации. Известно, что на протеолиз влияют многие факторы. В том числе, экспрессия протеолитических ферментов поддерживается на конститутивном уровне, но также регулируется на генетическом уровне [Klockgether *et al.*, 2017]. Мы можем предположить, что протеолитические ферменты, регулируемые большим числом генов, преимущественно отвечают за распространение штамма и лишь частично определяют общую токсичность.

Повышенную активность гемолитических ферментов *P. Aeruginosa* при 30 °C можно связать с их ролью в обеспечении антагонистических свойств штаммов в природных биотопах [Spencer *et al.*, 2015]. Полученные нами данные о гемолитических свойствах штаммов не коррелировали с их цитотоксичностью. Однако необходимо заметить, что метод оценки гемолиза при помощи кровяного агара не описывает действие всех токсических фосфолипаз [Georgescu *et al.*, 2016]. Не исключено, что некоторые исследуемые штаммы обладали негемолитическими фосфолипазами, которые не были исследованы в рамках настоящей работы, но могли играть важную роль в цитопатическом эффекте бактерий.

Таким образом, сравнительный анализ факторов вирулентности изолятов *P. Aeruginosa* из разных биотопов выявил значительную их вариабельность, что может обуславливать различия в патогенезе инфекций, вызванных этими штаммами.

#### Список литературы

- 1) **Demidyuk, I.** Cloning, sequencing, expression, and characterization of protealysin, a novel neutral proteinase from *Serratia proteamaculans* representing a new group of thermolysin-like proteases with short N-terminal region of precursor [Text] / I. Demidyuk, A. Kalashnikov, T. Gromova, E. Gasanov, D. Safina, M. Zabolotskaya, S. Kostrov // Protein Expression and Purification. – 2006. – V. 47. – P. 551–561.
- 2) **Georgescu, M.** Virulence and resistance features of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from chronic leg ulcers [Electronic resource] / M. Georgescu, Gheorghe I, C. Curutiu, V. Lazar, C. Bleotu, M. Chifiriuc // BMC Infect Dis. – 2016 – Режимдоступа: <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1396-3> - Датадоступа: 8.03.16.
- 3) **Keller-Costa, T.** The freshwater sponge *Ephydatia fluviatilis* harbours diverse *Pseudomonas* species (*Gammaproteobacteria*, *Pseudomonadales*) with broad-spectrum antimicrobial activity [Electronic resources] / T. Keller-Costa, A. Jousset, L. van Overbeek, J. van Elsas, R. Costa // PLoS One. – 2014. - Режимдоступа: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088429> - Датадоступа: 12.02.14.
- 4) **Moradali, M.** *Pseudomonas aeruginosa* Lifestyle: A Paradigm for Adaptation, Survival, and Persistence [Text] / M. Moradali, S. Ghods, M. Moradali, S. Ghods, B. Rehm // Front Cell Infect Microbiol. – 2017. - V. 7. - P. 39-46.
- 5) **Priyanka, A.** Crop specific plant growth promoting effects of ACCd enzyme and siderophore producing and cynogenic fluorescent *Pseudomonas* [Electronic resource] / A. Priyanka, A. Kotasthane // 3 Biotech. – 2017. – Режимдоступа: [doi.org/10.1007/s13205-017-0602-3](https://doi.org/10.1007/s13205-017-0602-3)- Датадоступа: 11. 04. 17.
- 6) **Septimus, E.** Prevention of Device-Related Healthcare-Associated Infections. / E. Septimus, J. Moody // F1000Research. – Режимдоступа: [doi.org/10.12688/f1000research.7493.1](https://doi.org/10.12688/f1000research.7493.1) - Датадоступа: 14.01.16.
- 7) **Spencer, C.** brown ha. Biochemical characterization of a *Pseudomonas aeruginosa* phospholipase [Text] / C. Spencer, H. Brown // D. biochem. – 2015. V.54. P. 1208-18.

## БЕСКЛЕТОЧНЫЙ СИНТЕЗ ПОРФИРИНОВ АКТИНОМИЦЕТОМ *STREPTOVERTICILLIUM SP.-7*

Ф.А.Каримова, Л.И.Абдульмянова, Т.Г.Гулямова

НИИ Микробиологии АН РУЗ, г. Ташкент, Узбекистан

В последнее время большое внимание уделяется природным порфиринам, таким как уропорфинин III и копропорфинин III. Гидрированная форма копропорфина III является важнейшим промежуточным соединением при биосинтезе гемов, хлорофиллов, бактериохлорофиллов. Концентрация копропорфина III в биологических жидкостях (моча, кровь) является важным показателем при клинических исследованиях заболеваний, связанных с воздействием на организм соединений тяжелых металлов (свинца), токсических веществ и алкоголя. При этом происходят серьезные нарушения в биосинтезе гемма, о глубине которых судят как по уровням содержания копропорфина III, так и по соотношению его изомеров III и I. Подобные подходы разработаны и для диагностики раковых заболеваний.(1).

Учитывая, что одним из приоритетных направлений социально-экономического развития нашей страны является развитие биотехнологических производств фармацевтической отрасли, целью наших исследований стал поиск активного микробного продуцента порфиринов, изучение особенностей синтеза и накопления порфиринов для разработки биотехнологических подходов их получения.

Ранее в результате скрининга попорфиринсинтезирующей способности ряда микроорганизмов, относящихся к родам *Arthrobacter*, *Actinomyces*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Aspergillus*, выращенных на различных питательных средах - глюкозо-пептонной, Гаузе, Кинга, Чапека, отобрана культура актиномицета *Streptoverticillium sp. - 7*, синтезирующая 466 мкг/л порфиринов на 5-е сутки роста.(3.)

Спектр синтезируемых тетрапирролов был исследован в экстрактах биомассы отобранного штамма *Streptoverticillium sp. - 7* методом ВЭЖХ на колонке ZorbaxEclipseXDBC18 3.0x 100mm, 3.5um (в градиенте MeCN-1MNH<sub>4</sub>AcрН5). Полученные данные показали, что в составе экстракта присутствуют соединения, соответствующие по времени выхода копропорфину III и уропорфину III.

Ранее была показана практическая перспективность метода бесклеточного синтеза кобаламинов на цитозоле пропионовых бактерий – активных продуцентов кобаламинов (2). Мы предположили, что возможность применения цитозоля исследуемого актиномицета *Streptoverticillium sp. - 7* для бесклеточного синтеза порфиринов вероятно также является весьма перспективной.

В этой связи, для моделирования регуляции биосинтеза порфиринов нами был получен бесклеточный экстракт (цитозольная фракция) штамма *Streptoverticillium sp. - 7*, который использовался как ферментный препарат.

Инкубацию бесклеточного экстракта (цитозоля) проводили в ранее подобранных условиях для оптимального синтеза кобаламинов. Таковыми являются: 0,02М Трис - HCl буфер с рН 7,0, содержащем 0,25М сахарозы, 3мМ MgCl<sub>2</sub>, 15мМ KCl, температура 37<sup>0</sup>С, длительность инкубации 2 часа. При этом наибольший уровень синтеза кобаламинов в бесклеточной системе наблюдался при нейтральном значении рН.

С целью выявления оптимального значения рН для синтеза порфиринов нами было изучено влияние кислотности инкубационной среды бесклеточной системы штаммом *Streptoverticillium sp. - 7*. Было установлено, что порфиринсинтезирующая способность ферментов в цитозоле штамма достигает максимального значения при кислом значении рН инкубационной среды. Смещение рН среды в нейтральную или слабощелочную стороны ведет к уменьшению содержания порфиринов, о чем свидетельствует изменение окраски полученного экстракта.

Обеспечение энергетическим ресурсом биосинтетических процессов инкубационной среды при бесклеточном синтезе осуществляется за счет глюкозы, которая в силу особенностей строения термодинамически неустойчива и освобождает большое количество свободной энергии при своем

окислении. В этой связи, было изучено влияния глюкозы на бесклеточный синтез порфиринов в среде инкубации цитозоля *Streptovercilliumsp.* - 7, содержащей разные концентрации глюкозы (от 0,25 до 3,0% вес/объем) в течении 3 часов.

При исследований содержания глюкозы, в среде инкубации, был установлен существенный эффект на активность трансформации эндогенных промежуточных метаболитов в соединениях порфириновой природы. В пределах концентрации от 0,25 до 2% в инкубационной среде наблюдается увеличение содержания суммарных порфиринов от 0,06 мг в контроле до 0,6 мг/г белка. При повышении концентрации глюкозы до 3% уровень порфиринов уже несколько меньше (0,5 мг/г белка). Очевидно, это может быть связано с ингибирующим действием либо высоких концентраций глюкозы, либо образующихся продуктов на соответствующую ферментативную реакцию.

При этом на хроматограммах обнаруживаются два больших пика, соответствующие копропорфину III и уропорфину III, значительный пик неидентифицированной природы и ряд метаболитов в незначительном количестве.

Внесение глюкозы в бесклеточный экстракт *Streptovercilliumsp.* - 7 в пределах концентраций до 2% включительно способствует повышению эффективности *invitro* синтеза порфиринов. Вместе с тем, количество образующихся тетрапирролов несомненно указывает на то, что изолированный цитозоль *Streptovercilliumsp.* - 7, содержит достаточное количество эндогенных предшественников и высокую ферментативную активность для увеличения синтеза порфиринов.

Однако, для получения цитозольной фракции штамма *Streptovercilliumsp.* - 7 с высокой ферментативной активностью, необходимо получение достаточного количества биомассы данной культуры.

Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что местный штамм актиномицета *Streptovercilliumsp.* - 7 является перспективным объектом исследования бесклеточного синтеза порфиринов для дальнейшей разработки основ с целью получения необходимого метаболита.

### **Литература**

1. Быховский В.Я., Зайцева Н.И., Елисеев А.А. Тетрапирролы: разнообразие, биосинтез, биотехнология // Прикл. биохимия и микробиол.-1998. - Т. 34.- № 1.- С.3-21.
2. Мингалиева Л.И. Изучение влияния физико-химических факторов на биосинтез витамина В<sub>12</sub> местными штаммами пропионовокислых бактерий. Автореферат диссертации. Ташкент, 2007 г.
3. Рузиева Д.М., Каримова Ф.А., Мингалиева Л.И., Узбеков С.С., Вешкурова О.Н., Гулямова Т.Г. Влияние условий культивирования на синтез тетрапиррольных соединений местными штаммами актиномицетов» Доклады Академии Наук РУ, № 4, 2008г., С.72-76.

## **ОЦЕНКА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МАКРООРГАНИЗМА ПРИ УПОТРЕБЛЕНИИ МЕТАБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ**

*Е.П.Колеватых, И.В.Зайцева, Ю.А.Махнева*

ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России, г. Киров, Россия

В последние годы отмечается рост числа заболеваний, связанных с дисбалансом нормальной микрофлоры различных биотопов организма человека. На протяжении многих лет для лечения дисбактериозов применяли биологические препараты бактериального происхождения. Чаще использовали пробиотики, полученные из живых бактерий – симбионтов: колибактерин, лактобактерин, бифидобактерин. Учеными разных стран были разработаны комбинированные препараты: бификол, бифилиз и другие; пребиотики; метабитики. Многочисленные исследования доказали, что пробиотические штаммы микроорганизмов могут вызывать побочные эффекты,

внедряясь в процессы обмена веществ индивидуума. Единого мнения об абсолютной пользе пробиотиков и пребиотиков нет, так ряд исследователей утверждает позитивную роль в коррекции дисбиозов биотехнологических штаммов бактерий.

Цель работы: установить влияние иммунобиологических метабиотических препаратов бактериального происхождения на микробиологические, иммунологические, биохимические показатели экспериментальных животных и человека.

Задачи исследования: разработать методику получения метабиотического препарата из пробиотического штамма *Lactobacillus acidophilus* и изучить биологические свойства метаболитов (ЛактоМетаЦид); провести сравнительный анализ микробного статуса кишечника, полости рта человека и экспериментальных животных при применении пробиотических и метабиотических иммунобиологических препаратов; изучить динамику изменения содержания провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, сывороточных иммуноглобулинов класса А, М, G, Е, секреторного IgA, фагоцитарной активности нейтрофилов макроорганизма при употреблении пробиотических и метабиотических препаратов; определить влияние метабиотиков на биохимические показатели макроорганизма.

Исследования проводили в 2 этапа. На первом этапе получали новый метабиотический препарат и определяли его свойства: кислотность, рН, лизоцимную, гемолитическую, антагонистическую активность. Добавляли в рацион лабораторным белым мышам, предварительно смоделировав дисбактериоз кишечника. На втором этапе изучали действие коммерческих пробиотических и метабиотических препаратов у 72 пациентов с патологией желудка и двенадцатиперстной кишки: бактериологическое исследование фекалий, содержащее зубо-десневых карманов с помощью полимеразной цепной реакции, определение уровня цитокинов и иммуноглобулинов, фагоцитарную активность нейтрофилов, биохимические показатели крови. Животные были разделены на группы по 50 голов: в питание животных первой группы вводили препарат ЛактоМетаЦид, второй – Хилак форте, третьей – лактобактерин, четвертая – обычная пища. Исследовали фекалии до применения препарата и после приема иммунобиологических средств на содержание микроорганизмов. Фекалии отбирали с помощью ректальной трубки, после применения препарата - при вскрытии кишечника в условиях смертельной дозы эфира с соблюдением правил асептики и антисептики. На втором этапе изучали фекалии, кровь, зубной налет пациентов Клиники ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России. В условиях стационара брали венозную кровь, доставляли в течение двух часов в микробиологическую лабораторию. Было обследовано 30 пациентов с клиническими признаками пародонтита разной степени тяжести (15 женщин и 15 мужчин). Возраст пациентов варьировал от 39 до 76 лет, средний возраст составил  $52,3 \pm 2,1$  лет. В контрольную группу вошли 30 человек, имеющих здоровый пародонт, средний возраст -  $56,3 \pm 7,5$  лет. У всех пациентов после осмотра ротовой полости осуществлялся сбор ротовой жидкости натошак. Количественный анализ пародонтогенных микроорганизмов проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с использованием наборов реагентов «Пародонтоскрин» («ДНК–Технология», Россия). Микробиологические исследования зубного налета осуществляли на 5 тест-культурах условно-патогенных бактерий: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis*, *Treponema denticola*. Уровни цитокинов и иммуноглобулинов сыворотки крови пациентов, секреторный иммуноглобулин А изучали в первые сутки поступления в стационар и через 10 дней после лечения. Содержание сывороточных цитокинов 17А, 23,33,35, иммуноглобулинов А, М, G, Е устанавливали методом иммуноферментного анализа с использованием наборов производства НПО «Вектор-Бест». Определяли уровень содержания в сыворотке крови аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), общего холестерина, креатинина, мочевины, калия, натрия, общего белка, глюкозы общепринятыми методами. Результаты исследований обрабатывали при помощи стандартного статистического пакета («SPSS-11,5 for Windows»).

Анализируя результаты исследования, необходимо отметить, что метаболиты *Lactobacillus acidophilus* обладали кислотной активностью 80 градусов по Тернеру, пероксидазой, рН = 5,6. Бактериальный лизоцим (мурамидаза) был обнаружен в пределах 1.0 – 1,2 нг/мл, что

свидетельствует о воздействии метаболитов бактерий на расщепление мурамовой кислоты в составе оболочки грамположительных патогенных бактерий. Методом отсроченного антагонизма установлено, что ЛактоМетаЦид губительно действует на возбудителей кишечных инфекций и стафилококк (диаметр зоны задержки роста свидетельствует о средней и высокой антагонистической активности препарата: 25 – 27 мм при действии на бактерии рода *Proteus* spp., *Shigella* spp.; 21 мм – *Staphylococcus aureus*). У животных состояние микрофлоры кишечника изменялось после применения иммунобиологических препаратов. Можно утверждать, что наибольшим эффектом обладал препарат Хилак форте: повысилось содержание бифидо- и лактобактерий, резко снизился уровень гемолитических форм кишечной палочки ( $p < 0,05$ ). Новый препарат ЛактоМетаЦид также вызвал снижение количества гемолитических форм кишечной палочки, условно-патогенных микроорганизмов, дрожжевых грибов и дрожжей, увеличился уровень содержания бифидобактерий, лактобацилл, энтерококков ( $p < 0,05$ ). Среди обследуемых животных третьей группы после введения в корм пробиотиков изменение микробного состава было более медленным. Из представленных данных следует, что у всех животных был вызван дисбактериоз кишечника, в результате приема метабиотических препаратов произошли количественные изменения в сторону нормализации показателей при отсутствии эффекта пробиотиков, то есть для ожидания эффекта после применения живых бактерий необходимо время для синтеза веществ и выделения их в просвет кишечника.

При оценке состояния микробиоценоза кишечника у всех больных с патологией желудка и двенадцатиперстной кишки также констатировали дисбиоз кишечника. Выявленные качественные и количественные изменения состояния микрофлоры кишечника в большинстве случаев соответствовали различного уровня дисбактериоза: у 50% больных - 2 степень, в 31,8% случаев – 3 степень. При дисбиозе кишечника были установлены качественные и количественные изменения состава эндогенной микрофлоры кишечника: в фекалиях пациентов обнаружили снижение уровня бифидобактерий (100%) и лактобактерий (68,2%), энтерококков (77,3%), лактозопозитивных эшерихий (59,1%). Слабая ферментативная активность *Escherichiacoli* выявлена среди пациентов (18,2% случаев), гемолитические формы кишечной палочки - (63,6%). Наиболее часто среди представителей условно - патогенной микрофлоры (УПМ) выделяли грибы рода *Candida*, дрожжи, золотистый стафилококк, клостридии. Вегетировали в ассоциациях 2, 3 и более видов УПМ (90,9% пациентов), причем у большинства больных (80,2%) они включали грибы рода *Candida*, в 54,5 – дрожжи, в 45,5% – клостридии. Известно, что избыточная колонизация кишечника грибами всегда свидетельствует о глубоких нарушениях микробного симбиоза.

Кроме того, впервые в данной работе были определены редкие виды эшерихий. Необходимо отметить, что чаще всего встречались представители вида *Escherichia fergusonii* – у 40,9% пациентов.

Статистическая обработка результатов состояния микрофлоры полости рта после применения иммунобиологических препаратов показала наибольший эффект препарата Хилак форте: уровень содержания *Actinobacillus actinomicetemcommitans* достоверно снизился (6,0 и 3,0,  $p < 0,05$ ), *Porphyromonas gingivalis* и *Tannerella forsythensis* (5,8 и 3,1 – 3,8 КОЕ/мл), увеличилось содержание стрептококков, которые необходимы для формирования зубной бляшки, синтеза собственных метаболитов – антагонистов патогенных бактерий. Уровень лактобактерий не изменился, надо обратить внимание на неоднозначную роль их в полости рта, так как при определенных условиях при интенсивном кислотообразовании их, происходят процессы, характерные для кариеса зубов.

В острой фазе заболеваний гастродуоденальной области уровень IL23 был резко повышен, известно, что он играет роль в Th-1 дифференцировке лимфоцитов, при наличии его в крови индуцируется образование IL17, выработка нейтрофилов, он играет большую роль в защите организма от бактериальных инфекций. Высокие концентрации сочетаются с воспалением в эпителиальной и нервной ткани. Также установлено увеличение показателей IL33, который участвует в развитии аллергических воспалительных процессов, повышая выделение цитокинов Th-2 клетками, стимулирует процессы дегрануляции, адгезии, выживания и миграции базофилов. Значения интерлейкина 17A были резко повышены среди обследуемых всех групп, указывающие

на наличие воспалительных реакций с аутоиммунным компонентом. Концентрация интерлейкина 35 была снижена. Также установлено наличие нарушений в гуморальном ответе пациентов: снижение количества иммуноглобулинов А, М, G, Е ( $p < 0,05$ ): SIgA (0,56 и 0,46 г/л), IgM (2,8 и 1,8 г/л), IgE (121 и 87 Мед/л). Следовательно, при дисбактериозе у пациентов с гастроудоденальной патологией, происходят воспалительные процессы в остром периоде, о чем свидетельствует повышенное содержание IgM, страдает местный иммунитет и развиваются аллергические реакции (показатели выше нормы). Выявлено незначительное увеличение уровня холестерина общего до 6,8 – 7,1 ммоль/л. Однако, после применения метабиотических препаратов средние показатели снизились до 6,2 ммоль/л.

Учитывая изменения в гомеостазе организма человека в сторону тенденции к нормализации обменных процессов (увеличение количества нормофлоры; снижения уровня условно-патогенных бактерий, пародонтогенных микробов, провоспалительных интерлейкинов, активности фагоцитоза, общего холестерина) при применении метабиотических препаратов Хилак форте, необходимо отметить более безопасное применение иммунобиологических веществ данной группы, так как их действие конкретное, направленное на определенный процесс метаболизма клеток бактерий и организма хозяина.

## **ПОЛИМЕРНЫЕ МАТРИЦЫ В СОРБЦИИ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ И ОПРЕДЕЛЕНИИ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ**

*С.Н.Куликов<sup>1,2</sup>, Ю.А.Тюрин<sup>1,3</sup>, Т.А.Григорьева<sup>1</sup>, Р.З.Хайруллин<sup>1,4</sup>*

<sup>1</sup>ФБУН Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии  
Роспотребнадзора, г. Казань

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Россия, г. Казань,  
Россия

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, г. Казань, Россия

<sup>4</sup>ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет», г.  
Казань, Россия

Протеиназы патогенных и условно-патогенных микроорганизмов играют существенную роль в патогенезе поражений. Большое внимание уделяется микробным протеолитическим ферментам, которые расщепляют молекулы иммуноглобулинов класса G (IgG). Для выявления активности этих энзимов применяются различные методы: спектрофотометрические, нефелометрические, иммунопреципитирующие, иммунохимические в сочетании с гельфильтрацией в полиакриламидном геле [1, 2]. Наиболее перспективным из современных способов определения IgG-протеиназной активности является метод иммуноферментного анализа благодаря своей высокой чувствительности.

В настоящее время существует несколько подходов к определению IgG-протеиназной активности с помощью иммуноферментного метода [3]. В этих случаях используется предварительная сорбция бактериальных антигенов (например, бактериальных антигенов) в лунках полистиролового планшета, с которыми впоследствии специфически взаимодействует добавляемый к ним IgG. Добавление к такой системе раствора, содержащего протеолитические ферменты, приводит к расщеплению IgG (отщеплению Fc-фрагмента), что легко фиксируется последующим добавлением в лунки конъюгата белка А стафилококка с пероксидазой. Преимуществом этого способа является его достаточно высокая чувствительность, однако, использование в качестве сорбируемого на полистироловую поверхность планшета антигена, представляющий собой по сути комплекс бактериальных белков и гликопротеинов, обладает недостатком, а именно - подверженностью самого антигена к ферментативному расщеплению протеолитическими энзимами, что может исказить реальную величину активности исследуемого фермента. Для устранения этого нежелательного эффекта может быть применена схема

раздельного осуществления ферментативной реакции - в одной ёмкости (планшете) с последующим определением концентрации нерасщеплённых антител в другой ёмкости (планшете), содержащую сорбированные антигены [3]. Однако, недостатками такой оценки протеолитической активности являются: использование двух планшетов - для проведения реакции расщепления иммуноглобулинов, а затем переноса реакционной смеси во второй планшет тест-системы для определения количества нерасщеплённого субстрата; необходимость предварительного подбора разведения тестируемого фермента, чтобы попасть в диапазон концентраций, благоприятных для определения активности.

Вышеупомянутая проблема была устранена в подходе [4], где в качестве субстрата использовался IgG, сорбированный непосредственно на полистироловую поверхность планшета без использования бактериального (белкового) антигена. Однако, такой подход, несмотря на всю его простоту, обладает существенным недостатком – пониженной доступностью молекул IgG для ферментативного расщепления в силу того, что молекулы иммуноглобулинов благодаря гидрофобному взаимодействию зафиксированы на поверхности полистирола и менее доступны ферментам. Более того, благодаря большому размеру молекулы IgG, сорбированный на полистироле иммуноглобулин может подвергаться многократному протеолитическому расщеплению без потери способности связывать впоследствии специфический конъюгат (белок А стафилококка с пероксидазой или специфический к Fc-фрагменту IgG с пероксидазой), что может привести к заниженной оценке протеолитической активности исследуемого фермента.

В связи с этим задачей настоящей работы являлась разработка простого способа, позволяющего с высокой точностью и высокой чувствительностью определять протеолитическую активность с использованием иммуноферментного метода.

Определение IgG-протеиназной активности проводили следующим образом. В лунки планшета предварительно сорбировали полимерную матрицу – двунитевую полидезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) по аналогии с хитиновыми матрицами для пероксидаз в более ранней работе [5]. Для этого ДНК растворяли в 0.2 М натрий-фосфатном буферном растворе с pH 7.4 из расчёта 20 мкг/мл. Приготовленный раствор в объёме 50 мкл вносили в лунки планшета, инкубировали в течение 24 ч при 4°C. После этого лунки планшета трижды промывали 0.2 М натрий-фосфатным буферным раствором, pH 7.4, содержащим 0.05 % твин-20, заливая по 100 мкл в каждую лунку, затем планшет осушали путём вытряхивания остатка жидкости. Подготовленные таким образом планшеты можно хранить в течение года при 4°C в сухих условиях. Затем растворяли IgG специфический к двунитевой ДНК в 0.2 М натрий-фосфатном буфере, pH 7.4, в концентрациях 0.1-1 мкг/мл и вносили по 50 мкл раствора в лунки планшета. Закрывали крышкой и оставляли на 1 ч при комнатной температуре. Три раза отмывали планшет 0.2 М натрий-фосфатным буферным раствором, pH 7.4, содержащим 0.05% твин-20, заливая по 100 мкл в каждую лунку, затем планшет осушали путём вытряхивания остатка жидкости. В лунки планшета вносили по 100 мкл 0.02 М натрий-фосфатного буферного раствора с pH 7.4. В одну из лунок планшета вносили 100 мкл раствора фермента (трипсина) в том же буфере в концентрации 1 мкг/мл. Далее готовили двукратные разведения трипсина, используя несколько следующих лунок. После инкубации в термостате в течение 1 ч при 37°C, трёх отмывок 0.2 М натрий-фосфатным буферным раствором, pH 7.4, содержащим 0.05 % твин-20, и осушения планшета в каждую лунку вносили по 100 мкл конъюгата пероксидазы с белком А золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*) в том же буфере в подобранном разведении. После инкубации в термостате в течение 1 ч при 37°C, трёхкратной отмывки с детергентом и осушения планшета в каждую лунку вносили по 100 мкл субстратного раствора (0.038 %-ный раствор о-фенилендиамина в 0.1 М натрий-цитратном буфере, pH 6.0, содержащий 0.06% перекиси водорода). После 30 минутной инкубации в темноте при комнатной температуре реакцию останавливали внесением в каждую лунку 50 мкл 25% серной кислоты. Результаты реакции учитывали с помощью спектрофотометра с вертикальным лучом измерением светопоглощения при 492 нм. Количество расщепленного IgG определяли по разнице между количеством иммуноглобулина в контроле и опыте, используя стандартную калибровочную кривую. IgG-протеиназную активность рассчитывали по формуле:  $A = (C_k - C_o) / tC_f$ ; где А – активность фермента

(в усл. единицах) активности;  $C_k$  – концентрация иммуноглобулина в контроле;  $C_o$  – концентрация иммуноглобулина в лунках, куда вносили раствор фермента;  $T$  – время протеолиза;  $C_f$  – концентрация фермента в анализируемом растворе.

Использование в качестве сорбированного антигена полимерных матриц, в данном случае – полинуклеиновой кислоты, позволяет избежать каталитически эффективного взаимодействия с ними исследуемого протеолитического фермента, что не приводит к искажению истинной величины активности изучаемого фермента. Кроме того, высокая степень полимеризации матриц с которыми связываются молекулы IgG позволяет эффективно нивелировать негативный эффект от наличия в среде с протеиназами также ферментов, способных расщеплять эти полимерные матрицы – нуклеаз, поскольку эффективное расщепление высокополимерных соединений, сопровождающихся их полной десорбцией с поверхности полистирола, требует наличия очень высоких концентраций этих специфических энзимов.

Было установлено, что использование полинуклеиновой матрицы может быть использовано для сорбции на них специфических иммуноглобулинов с последующим воздействием на них ферментов – протеаз. Установлено, что молекулы иммуноглобулина эффективно связываются с нуклеиновой кислотой, о чём свидетельствует большая величина значения оптической плотности в контроле без добавления фермента.

При добавлении фермента происходит расщепление сорбированного иммуноглобулина. Fc-фрагмент отщепляется и впоследствии удаляется из лунки, поэтому не участвует во взаимодействии с конъюгатом, который добавляют на следующем этапе. Таким образом, чем выше протеиназная активность, тем большее количество молекул иммуноглобулина подвергается расщеплению, и, следовательно, меньше величина оптической плотности после добавления конъюгата и хромогенного субстрата. Экспериментальные данные свидетельствуют, что данный метод позволяет выявить ферментативную активность трипсина в нанограммовых количествах.

При этом, полимерная матрица остаётся целой в силу того, что в реакционной среде отсутствуют ферменты, которые специфически её расщепляют. В случае присутствия в реакционной среде ферментов, которые могут воздействовать на полимерную матрицу, например – нуклеаз, содержащиеся в культуральной жидкости, следует учесть, что их активность не приведёт к десорбции полимера с полистироловой поверхности. Если же на наличие протеиназной активности используется ферментный препарат, содержащий и высокоактивные нуклазы, то в качестве полимерной матрицы можно выбрать другие полимеры, например, хитин. Хитиновые полимерные матрицы ранее нами были использованы для сорбции и детектирования хитин-специфических пероксидаз [5, 6]. В качестве полимерных матриц может быть использован и производное хитина – хитозан, который интенсивно используется в биотехнологии в последние два десятилетия [7, 8].

Таким образом, проведённые исследования позволили создать простой способ определения IgG-протеиназной активности методом иммуноферментного анализа, характеризующегося хорошей воспроизводимостью результатов, высокой чувствительностью, отсутствием необходимости использовать белковые антигены, малым расходом субстрата, удобством за счёт проведения реакции непосредственно в лунках микропланшета, осуществление реакции и детекции результатов реакции в одной и той же лунке.

Работа выполнена за счёт средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

#### Литература

1. Aubaid A.H., Muhsin. T.M. Partial purification and kinetic studies of exocellular proteinase from *Trichophyton mentagrophytes* var. *Erinacei* // *Mycoses*. 1998. V. 41. № 3-4. P. 163-168.
2. Brinkworth R.I., Brindley P.J., Harrop S.A. Structural analysis of the catalytic site of AcCP-1, a cysteine proteinase secreted by the hookworm *Ancylostoma caninum* // *Biochim. Biophys. Acta*. 1996. V. 1298. № 1. P. 4-8.



3. Зинкевич О.Д., Бондаренко В.М., Тюрин Ю.А., Сафина Н.А., Анохин В.А. Клинико-диагностическое значение оценки активности IgG-протеаз у детей с дисбактериозом кишечника // Журн. микробиол. эпидемиол. иммунобиол. 2004. № 3. С. 73-77.
4. Тюрин Ю.А., Куликов С.Н., Фассахов Р.С., Долбин Д.А., Баязитова Л.Т. Способ определения IgG-протеиназной активности» // Пат. РФ 2373538 (2009).
5. Куликов С.Н., Хайруллин Р.З. Полимерные хитиновые матрицы как лиганды для пероксидаз // Вестник Казанского технологического университета. 2013. № 7. С. 161-163.
6. Куликов С.Н., Долбин Д.А., Тюрин Ю.А., Хайруллин Р.М., Фассахов Р.С. Высокочувствительный и высокоспецифический способ детекции IgG-протеиназной активности с использованием полимерных матриц // Пат. РФ 2519071 (2014).
7. Куликов С.Н., Тюрин Ю.А., Долбин Д.А., Хайруллин Р.З. Роль структуры в биологической активности хитозана // Вестник Казанского технологического университета. 2007. № 6. С. 10-14.
8. Хитозан / Под. ред. К.Г. Скрябина, С.Н. Михайлова, В.П. Варламова. Центр «Биоинженерия» РАН, Москва, 2013. 593 с.

## МИКРООРГАНИЗМЫ ГИПЕРСОЛЁНЫХ ОЗЁР УЗБЕКИСТАНА И ИХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ

*А.И.Кулонов, А.К.Тонких, А.М.Мавжудова, Д.Т.Мирзарахметова*

НИИ Микробиологии АН РУЗ, г. Ташкент, Узбекистан

В настоящее время в мире существует достаточно большая коллекция галофильных микроорганизмов, которые используются при промышленном культивировании для получения различных биологически активных веществ (каротинов, липидов, витаминов и т.д.), полисахаридов и полиэфиров и др. В Узбекистане расположен ряд гиперсолёных водоемов, микрофлора которых мало изучена. Особый интерес представляют представители микроводорослей рода *Dunaliella* и галофильные бактерии, отличающиеся способностью к продукции значительных количеств каротиноидов и родственных биоактивных соединений, а также полисахаридов.

В этой цели настоящей работы был поиск местных штаммов водорослей рода *Dunaliella* и галофильных бактерий в гиперсолёных водоёмах Южного Приаралья.

В результате проведенных исследований из водоёмов Республики Каракалпакстан и Хорезмской, Бухарской областей РУз с солёностью воды от 150 до 250 г/л выделено 3 представителя рода *Dunaliella*. Установлено, что при культивировании в средах с содержанием NaCl в диапазоне 1-6 М, оптимальный прирост биомассы наблюдается при концентрации соли 2М и составляет 3 г/л среды. На *Dunaliellasalina* был апробирован накопительный и квазинепрерывный способ культивирования. При этом максимальной выход биомассы происходит на 5 сутки. Исследовано влияние ограничения азота и солевого стресса на содержание каротиноидов и общих липидов, а также на жирнокислотный состав липидов. Определено, что интенсивный белый свет 20-60 тыс лк ( $360 - 1080 \mu\text{Mols}^{-1}\text{m}^{-2}$ ) и добавление к белому свету слабого (2 тыс лк) мягкого ультрафиолета (280-400 нм) ускоряет накопление каротиноидов и токоферолов. При этом максимальное содержание каротиноидов в биомассе достигает 2,4%, токоферолов 0,28%, сумма липидов - 0,7% от сухой биомассы, которые содержат в своем составе *Омега-6*, *Омега-3* и *Омега-9*.

Из образцов озер Кунградского района выделены также галотолерантные и галофильные бактерии, которые при культивировании в периодическом процессе образуют экзополисахариды в количестве 0,7-1,0%. Изучены некоторые химические свойства полисахаридов.

Полученные данные в условиях накопительного и квазинепрерывного культивирования показывают, что микроводоросли и галофильных бактерий имеют биотехнологический потенциал для получения различных биологически активных веществ.

## О КРАЙНЕЙ НЕОБХОДИМОСТИ КОРРЕКЦИИ ДИСБИОТИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

Г.Д.Кутлиева<sup>1</sup>, Д.К.Нурмухамедова<sup>1</sup>, Х.Ф.Камалова<sup>1</sup>, С.Н.Наврұзов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>НИИ Микробиологии АН РУз, г. Ташкент, Узбекистан

<sup>2</sup>Республиканский Онкологический Научный Центр МЗ РУз

В качестве одной из основных задач здравоохранения в области онкологии на ближайшие годы предусматривается формирование стратегии восстановления утраченного здоровья на основе разработки новых методов профилактики, лечения и реабилитации больных раком. Общеизвестна важная роль микроэкологии кишечника в обеспечении здоровья организма в целом, так как минимальные нарушения состава микрофлоры приводят к развитию различных заболеваний органов и систем. Нормальная флора кишечника с ее специфическими функциями - защитной, обменной и иммуноиндуцирующей – определяет биоценоз кишечника. Применительно к противоопухолевой терапии необходимо отметить, что она является фактором, губительно действующим на нормальную микрофлору кишечника. Дисбактериоз при злокачественных новообразованиях клинически проявляется функциональной диспепсией или тяжелой интоксикацией с выраженными расстройствами всасывания, анемией, кровоточивостью слизистой оболочки ЖКТ. Коррекция дисбактериоза - это мощный фактор профилактики и лечения злокачественных опухолей и является необходимым звеном в комплексном лечении онкологических больных. **Цель и задачи исследований:** изучение микрофлоры кишечника больных колоректальным раком, проведение диагностики дисбиоза с последующей коррекцией отечественными пробиотическими препаратами. Исследования проводятся на базе РОНЦ МЗ РУз в отделении онкоколопроктологии. Объектом исследования послужили 30 больных с колоректальным раком в возрасте 40 -75 лет. Обследования проводили до и после курса лечения. **Результаты исследований:** у всех обследованных был выявлен дисбиоз 4 степени. Из микрофлоры толстой кишки были выделены условно-патогенные микроорганизмы: *Enterococcus faecalis* (8,9 log<sub>10</sub>КОЕ/г) 58%, *Klebsiella pneumoniae* (7 log<sub>10</sub>КОЕ/г) 18 %, *Proteus vulgaris* (5,7 log<sub>10</sub>КОЕ/ г) 10%, *Staphylococcus aureus* (4,6 log<sub>10</sub>КОЕ/г) 10%, *Candida spp.* (6 log<sub>10</sub>КОЕ/г) 2%, *Pseudomonas aeruginosa* (6 log<sub>10</sub>КОЕ/г) 2%. У всех больных отмечено отсутствие лактобактерий (100%), в норме которые должны быть не менее 10<sup>7</sup>-10<sup>8</sup> КОЕ/г. Бифидобактерии отсутствовали или представляли очень низкий титр клеток 10<sup>1</sup>-10<sup>2</sup> КОЕ/г (в норме до 10<sup>9</sup> КОЕ/г). Коррекцию проводили отечественными препаратами «Лактобактерин», «Бифидумбактерин», «Колибактерин» и «Бификол». Установлено, что у 80% леченных больных наблюдается изменение микробиоценоза в положительную сторону, связанное с восстановлением нормофлоры толстой кишки (титр клеток лакто- и бифидобактерий был восстановлен до 10<sup>7</sup>-10<sup>8</sup>КОЕ/г). Количество условно-патогенных бактерий обнаружено в пределах допустимой нормы. Коррекция микрофлоры кишечника больных колоректальным раком способствует повышению эффективности лечения больных, профилактике осложнений после операций, а так же улучшению состояния больных. Полученные результаты исследований особенностей микробной флоры кишечника у пациентов с колоректальным раком могут способствовать разработке методов профилактики и лечения, основанных на изменении диеты, для создания функционального питания и улучшения микробного биоценоза толстого кишечника с целью снижения риска развития данной патологии.

# АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ МЕСТНЫХ ШТАММОВ ЛАКТОБАЦИЛЛ ПРОТИВ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ, ИНИЦИИРУЮЩИХ ЯЗВЕННЫЙ КОЛИТ У ЛЮДЕЙ

Г.Дж.Кутлиева<sup>1</sup>, Н.А.Элова<sup>1</sup>, Д.У.Пазылова<sup>2</sup>, Д.Нурмухамедова<sup>3</sup>

<sup>1</sup> НИИ Микробиологии АН РУз, г. Ташкент, Узбекистан

<sup>2</sup> Республиканская клиническая больница МЗ РУз, г. Ташкент, Узбекистан

<sup>3</sup> Министерство высшего и среднего специального образования Республики Узбекистан  
Ташкентский Фармацевтический институт, г. Ташкент, Узбекистан

Исследования кишечной микрофлоры больных с воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК) показали, что наиболее типичными возбудителями этих заболеваний являются: *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Clostridium difficile*, *Escherichia coli* O157:H7, *Yersinia* и некоторые другие. Многочисленные исследования продемонстрировали, что существует тесная связь между составом микробиоты и различными аспектами здоровья хозяина, включая физиологическое состояние, метаболизм и иммунологический ответ (Amaral F, Sachs D, 2008). Суммируя многие исследования, можно прийти к выводу, что субпопуляции *E.coli* могут играть важную роль в патогенезе язвенного колита. Установлено, что у пациентов с болезнью Крона и язвенным колитом наблюдается повышенная концентрация видов *Enterobacteriaceae* и *Bacteroides* (Swidsinski A et al, 2002). Пациенты, страдающие ВЗК отличаются от здоровых пациентов, измененным составом комменсальных кишечных бактерий и как правило, отмечено повышенное количество адгезивных инвазивных *E.coli*, *Enterococci* и заниженное количество видов *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*. На сегодняшний день проведены немногочисленные микробиологические исследования по выявлению индукторов заболеваний ВЗК и способов ингибирования этих бактерий. Целью данного исследования является выявление и выделение доминирующих групп условно-патогенных энтеробактерий, которые могут инициировать воспалительные процессы в толстом кишечнике у пациентов с неспецифическим язвенным колитом (НЯК). А также проведение скрининга на антимикробную активность местных штаммов лактобацилл с целью создания нового биопрепарата для профилактики и лечения язвенного колита. **Материалы и методы.** Сбор биопсийного материала проводился в 1-Республиканской клинической больнице МЗ РУз, в отделении колопроктологии. Взятие биопсийного материала проводилось во время операции по поводу колэктомии и колоноскопии у больных с язвенным колитом. Взятие биопсийного материала производилось из мест с максимально выраженной гиперемией из дна язв и поверхности эрозий толстого кишечника. Исследования по идентификации энтеробактерий проведены в бактериологической лаборатории СЭС МСО МЗ РУз. **Результаты исследований.** Из исследованных 30 больных язвенным колитом было выделено более 60 клинических изолятов условно-патогенных энтеробактерий: 8 штаммов *Escherichia coli*, 25 штаммов *Proteus mirabilis*, 3 штамма *Enterobacter aerogenes*, 4 штамма *Klebsiella pneumoniae*, 3 штамма *Klebsiella oxytoca*, 3 штамма *Citrobacter diversus*, и 17 штаммов энтерококков *Enterococcus faecalis* и *E.faecium*, грибы рода *Candida*. Скрининг на антагонизм показал: культуры *L.casei* проявили высокую антагонистическую активность против 22 клинических изолятов *Proteus mirabilis*, диаметр зоны подавления роста составил от 31,6 до 38,7 мм. Протеи отличались сравнительной чувствительностью к действию метаболитов *L.casei*. Изучена активность 6 штаммов *L.casei* против 25 клинических изолятов *Enterococcus faecalis*. Культура *L.casei* K7 отличается высокой активностью по отношению энтерококков, зона подавления роста составила 30,92 мм в диаметре. Культуры *L.casei* также были активны против других энтеробактерий: клебсиелл, эшерихий и энтеробактерий. Изучена антимикробная активность 7 штаммов *L.rhamnosus* против 22 клинических изолятов *Proteus mirabilis*, диаметр зоны подавления роста составил от 31,6 до 38,7 мм. Культура *L.rhamnosus* ж.с.2 оказалась самой активной по отношению клинических штаммов протеев, зона подавления роста составила 36 мм в диаметре. Эта культура также обладала высокой активностью по отношению 25 штаммов *Enterococcus faecalis* (32 мм), 5 штаммов клебсиелл (36,4 мм). Культуры *L.rhamnosus* также были активны против других энтеробактерий: клебсиелл, эшерихий и энтеробактерий. Изучена антимикробная активность 8

штаммов *L. plantarum* против 22 клинических изолятов *Proteus mirabilis*, диаметр зоны подавления роста составил от 24,3 до 36,9 мм. Культура *L. plantarum* CO<sub>1</sub> оказалась самой активной по отношению клинических штаммов протеев, зона подавления роста составила 36,9 мм в диаметре. Эта культура также обладала высокой активностью по отношению 25 штаммов *Enterococcus faecalis* (33,2 мм), 5 штаммов клебсиелл (31,4мм). Таким образом, проведенный скрининг на антимикробную активность лактобацилл против клинических штаммов условно-патогенных микроорганизмов, выделенных от больных язвенным колитом показал широкий спектр антимикробной активности, который позволяет замену некоторых антибиотиков. Выводы: инфекции являются наиболее распространенным значительным неблагоприятным фактором среди больных язвенным колитом. Риск серьезных инфекций возрастает с увеличением числа иммуносупрессивной терапии, многие инфекции могут быть предотвращены применением эффективных биопрепаратов, обладающими антимикробными, защитными свойствами. В этой связи пробиотики представляют огромный интерес и перспективу для оптимизации методов профилактики и лечения ВЗК.

## **ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ ШТАММОВ CANDIDA ALBICANS В МИКРОБНЫХ КОНСОРЦИУМАХ С МИЦЕЛИАЛЬНЫМИ ГРИБАМИ**

С.А. Лисовская<sup>1,2</sup>, Н.И. Глушко<sup>1</sup>, Е.В. Халдеева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБУН Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Казань,

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Казанский ГМУ» Министерства здравоохранения РФ, г. Казань,

С каждым годом перечень грибов, способных вызывать заболевания у человека, постоянно пополняется. Помимо уже известных возбудителей микозов, все чаще в посевах, совместно с дерматомицетами и дрожжеподобными грибами, встречаются другие виды мицелиальных грибов.

Результаты культурального обследования пациентов, обратившихся в лабораторию микологии КНИИЭМ, показывают, что дрожжеподобные грибы являются одними из наиболее часто обнаруживаемых представителей микробиоценоза органов человека. Частота обнаружения грибов *C. albicans* в организме человека за период с 2010 по 2015 года составила, по данным наших исследований, около 78%. Среди основных возбудителей микозов наружных покровов грибок *C. albicans* встречался в посевах 57% случаях. Однако, в 46% случаях совместно с *C. albicans* выделялись и различные виды мицелиальных грибов (*Aspergillus niger*, *Asp. flavus*, *Asp. fumigatus*; *Rhizopus nigricans*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium tardum* и т.д.). Наиболее часто такая картина наблюдалась на фоне длительного поражения кожи. Как правило, больные, у которых обнаруживались смешанные микобиоты, страдали более глубокими и тяжелыми формами микозов. Известно, что в микробной ассоциации между разными видами складываются сложные взаимоотношения, в которых тесно переплетаются взаимные влияния участников ассоциаций друг на друга.

В связи с этим, целью исследований было изучение влияния микромицетов на основные факторы патогенности (адгезия и диморфизм) штаммов *C. albicans*. В работе использовали 60 штаммов *C. albicans*, выделенных от больных с клинически подтвержденным диагнозом кандидоз кожи, двух основных групп: выделенные в микст и моно-культурах.

Исследование адгезивных свойств штаммов двух групп выявило статистически достоверные отличия между группами. Адгезия штаммов *C. albicans*, выделенных из микст-биоценоза с мицелиальными грибами, превышала средний уровень адгезии штаммов из монокультур почти в два раза: (15.6±0.12)% и (8.3±1.3)% соответственно. В некоторых случаях, уровень адгезии штаммов *C. albicans*, выделенных в микст-культурах, поднимался до 26.4%. Максимальный процент герминативных трубок отмечался у штаммов с высоким уровнем адгезии, выделенных в микст-культурах, уже через тридцать минут инкубации культуры клеток. В то время как штаммы другой группы герминативные трубки образовывали только после 2,5 часа

инкубации, причем в десять раз менее активно, по сравнению с первой группой штаммов, или в единичном количестве.

Совместный рост грибов *C. albicans* и других видов мицелиальных грибов в культурах из патологического материала на среде Сабуро показало отсутствие антагонистических отношений между видами.

Исходя из этого, для исследования ингибирующего или стимулирующего влияния грибов микромицетов на патогенные свойства штаммов *C. albicans* были взяты экстракты мицелиальных грибов, наиболее часто встречаемых в микробиологических посевах из клинического материала.

Добавление экстрактов грибов *Asp. niger* и *P. chrysogenum* различных объемов в жидкую среду Сабуро, при культивировании штаммов *C. albicans*, выявило стимулирующее влияние экстрактов микромицетов в объеме 0,1, 0,25 мл не только на адгезивные свойства штаммов, но и на активацию формирования псевдомицелия клетками *C. albicans*.

Уровень адгезии у штаммов, выделенных в микст-культурах, после культивирования их с экстрактами, практически не изменялся, в отличие от другой группы. У штаммов, выделенных из монокультуры, средний уровень адгезии повысился с 9,5% до 19,6%.

После инкубации дрожжеподобных клеток с экстрактом *P. chrysogenum* в концентрации 0,1 мл в течение 1,5 часа клетки *C. albicans* начали активно образовывать трубки прорастания. Однако в ходе исследования двух основных групп штаммов отмечалась разница в активности формирования. Штаммы, выделенные из моно-культуры, образовывали трубки в 4 раза более активно (по скорости и по количеству трубок прорастания в 10 полях) по сравнению со штаммами, другой группы. Тем не менее, после совместной инкубации всех штаммов *C. albicans* с экстрактом в течение трех пассажей, все штаммы одинаково активно начали образовывать псевдомицелий.

На основании проведенных исследований можно сделать вывод о возможном синергизме *C. albicans* и мицелиальных грибов при грибковых инфекциях кожи. Увеличение уровня адгезии штаммов дрожжеподобных грибов *C. albicans* в микст-биоценозе может привести к усилению патогенных свойств и, тем самым, влиять на отягощение течения заболевания и своеобразие его клинических проявлений.

## СИФИЛИС У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ.

*Э.Р.Манапова<sup>1</sup>, В.Х.Фазылов<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Казанский ГМУ» Минздрава России, г.Казань, Россия

<sup>2</sup>ГАУЗ "РЦПБ СПИД и ИЗ МЗ РТ" г.Казань, Россия

Сифилис, являясь, инфекцией, передаваемой половым путем (ИППП), относится к числу наиболее известных факторов риска заражения, способствуя передаче ВИЧ в результате разрушения защитных барьеров слизистой оболочки и рекрутирования восприимчивых иммунных клеток (CD4+клеток, макрофагов) к месту заражения. Высокая распространенность экстрагенитальных проявлений у ВИЧ-инфицированных ведет к тому, что более половины ИППП, в том числе и сифилис, вероятно, будут пропущены только при скрининге половых органов; генитальное, ректальное и исследование ротовой полости особенно важно для мужчин, имеющих половые контакты с мужчинами (МСМ) и трансгендерных женщин и должно проводиться регулярно [1]. Вопрос влияния ВИЧ на клинические проявления и течение сифилиса остаётся открытым. По данным разных исследований ВИЧ-инфекция, даже на поздних стадиях, не влияет на течение сифилиса и эффективность его лечения, другие считают— что ВИЧ отягощает клинические проявления сифилиса. Ведение таких пациентов, в особенности, из групп риска имеет определенные трудности, поскольку многие вопросы диагностики, тактики лечения сифилиса у ВИЧ-инфицированных и оценки его эффективности остаются спорными.

Цель: клинико-эпидемиологический сравнительный анализ случаев сифилиса у ВИЧ и ВГС/ВИЧ инфицированных пациентов при постановки на диспансерный учет.

Материал и методы: в группу исследования вошло 80 пациентов с ВИЧ-моно (45% мужчин) и сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией (77% мужчин) на период постановки на диспансерный учет с длительностью инфицирования ВИЧ  $3,3 \pm 0,4$  года, средний возраст составил  $37,8 \pm 1,61$  лет; сорок девять пациентов с ВИЧ-инфекцией (первая группа) и 31 с сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией (вторая группа). Большинство (82%) имело вирусную нагрузку (ВН) РНК ВИЧ (метод полимеразной цепной реакции — ПЦР)  $<100\ 000$  копий/мл и уровень CD4+ клеток  $>350$ /мкл (70%). В группе ВГС/ВИЧ инфицирование было обусловлено парентеральным путем в 100% случаев (преимущественно героин). Клинико-эпидемиологическая диагностика ВИЧ-инфекций проводилась на основании санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.5.2826-10 «Профилактика ВИЧ-инфекции», методическими рекомендациями Минздравсоцразвития РФ "О проведении обследования на ВИЧ-инфекцию" от 06.08.2007 г. (№ 5950-PX). Диагноз ВИЧ-инфекция подтверждался при выявлении антител к ВИЧ (суммарные антитела) методом ИФА с использованием наборов реагентов НПО "Диагностические системы" г. Н. Новгород. Спектр антител к антигенам ВИЧ: gp160, gp 110/120, gp 41 (env ВИЧ-1); p55, p 40, p24/25, p18 (gag ВИЧ-1); p68, p52, p34 (pol ВИЧ-1) устанавливали методом иммунного блота с использованием тест-систем «New LAV Blot I» производства BioRad (Франция). РНК ВИЧ и РНК ВГС (с генотипированием) в плазме периферической крови определяли методом ПЦР с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени на анализаторах COBAS TaqMan 48 (Hoffman-La-Roche, Швейцария), Abbott m2000rt (Abbott Biosystems, США). Чувствительность качественного метода ПЦР для обнаружения РНК ВГС составляла – 150 МЕ/мл, количественного – от 15 до 200 МЕ/мл; для определения РНК ВИЧ порог составил 150 коп/мл. Фенотипирование лимфоцитов осуществлялось методом прямой реакции иммунофлуоресценции с моноклональными антителами (мкАТ) фирмы «Becton Dickinson» (США). Использовался BD Мультипест 6-цветный TBNK реагент (Becton Dickinson, USA), содержащий мкАТ CD3, CD4, CD8. Для учета реакции иммунофлуоресценции применяли проточный цитофлуориметр FACScanto II (Becton Dickinson, USA). Для выявления маркеров ИППП (в крови, в мазках из уретры, шейки матки и прямой кишки) использовались методы: микроскопическое и культуральное исследование, ПЦР, количественная микрореакция преципитации, реакция иммунофлуоресценции, ИФА, реакция пассивной гемагглютинации.

Результаты; при исследовании на ИППП у пациентов первой и второй группы диагностированы уrogenитальный хламидиоз (в 55% и 10%,  $p<0,01$ ), микоплазмоз (44% и 10%,  $p<0,05$ ), уреаплазмоз (38% и 13%,  $p<0,05$ ) и уrogenитальный кандидоз (16% и 6%,  $p<0,05$ ) случаев, с мало- или асимптомным течением в 68% и 64% случаев соответственно. В группе ВГС/ВИЧ инфекции выявлен трихомониаз (цервикальный канал у одной женщины в сочетании с уреаплазмозом и микоплазмозом). У моноинфицированных пациентов диагностированы трихомониаз (уретра, цервикальный канал и прямая кишка) и гонорея в обоих случаях в 5%. В структуре заболеваемости сифилисом диагностированы ранние манифестные формы — первичный и вторичный сифилис. В работе Орловой И.А. и соавт. (2015) было установлено, что в то время как в структуре заболеваемости сифилисом преобладают скрытые формы заболевания, у пациентов с ВИЧ-инфекцией доминируют ранние манифестные — первичный и вторичный сифилис кожи и слизистых, а также нейросифилис [4]. У 14% и 19% пациентов первой и второй группы выявлялся первичный и вторичный сифилис, в возрасте  $37,4 \pm 1,2$  лет, с равным распределением по полу в обеих группах. Удельный вес ВИЧ-инфекции, среди больных сифилисом варьирует в зависимости от изучаемой группы от 3% в общей популяции до 75% в популяции потребителей инъекционных наркотиков и 90% МСМ. Среди ВИЧ-инфицированных у 3 пациентов диагностировано сочетание сифилиса с уреаплазмозом (уровень CD4+ клеток -  $19 \pm 0,9\%$ ), при отсутствии сочетанных с сифилисом инфекций во второй группе. В нашем исследовании также у пациентов с сифилисом на момент постановки на диспансерный учет выявлены самые низкие уровни CD4+ лимфоцитов ( $20 \pm 1,1$  и  $22 \pm 1,1\%$ ), а уровень ВН РНК ВИЧ превышал показатели при других ИППП в обеих группах. При этом среди пациентов с сочетанными инфекциями сифилис и ВГС/ВИЧ ВН РНК ВИЧ достоверно была выше показателя ВИЧ-инфицированных ( $p<0,01$ ). У пациентов без ИППП на момент постановки на учет - CD4+ лимфоциты также достоверно ( $p<0,01$ ) превышали уровни у пациентов с сифилисом, а уровень ВН РНК ВИЧ был ниже ( $p<0,01$ ), подтверждая данные исследований, что на фоне сифилитической

инфекции у ВИЧ-инфицированных значительно возрастает уровень вирусной РНК в сыворотке и снижается количество CD4<sup>+</sup> Т-клеток, то есть сифилис способствует прогрессированию ВИЧ-инфекции. Таким образом, на момент постановки пациентов на учет со сроком инфицирования ВИЧ менее 4 лет, ИППП преобладали в группе ВИЧ-инфекции, с большей частотой выявления урогенитального кандидоза, хламидиоза, уреаплазмоза и микоплазмоза при малосимптомном течении по сравнению с данными при сочетанной инфекции.

У пациентов с сифилисом отмечались более низкие показатели CD4 лимфоцитов и высокие уровни ВН РНК ВИЧ с достоверно более высоким уровнем у пациентов с ВГС/ВИЧ-инфекцией.

#### Список литературы:

1. BHIVA/BASHH guidelines on the use of HIV pre-exposure prophylaxis (PrEP) 2018. HIV Med. 2019 Mar. 20. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/hiv.12718>

2. И.А.Орлова, А.В.Коробко, Н.В.Смирнова и др. Есть ли клинические особенности проявлений сифилиса у пациентов с вич-инфекцией?// ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии/ – 2015. - № 3.- с.97-104.

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СПОСОБНОСТИ ШТАММОВ *M. MORGANII* К АГГЛЮТИНАЦИИ ДРОЖЖЕЙ

*Р.С.Маруф, З.С.Тошева, А.М.Марданова*

ФГАОУ ВО КФУ, Институт фундаментальной медицины и биологии, Россия, г. Казань, Россия

**Введение:** *M. morganii* является факультативной анаэробной грамотрицательной палочковидной бактерией [Morgan, 1907]. Фимбрии играют роль в различных заболеваниях как важные факторы вирулентности бактерий. К наиболее распространенным таким инфекциям относят инфекции мочевыводящих путей, половых органов и желудочно-кишечного тракта. В дополнение к своей адгезивной функции фимбрии также играют роль в образовании биопленок, связывании фагов, инвазии клеток-хозяев, агрегации клеток и подвижности типа подергивания [Proft, Baker, 2009]. Агглютинация дрожжей является простым широкоиспользуемым методом выявления у бактерий экспрессии фимбрий I типа. Известно, что фимбрии I обеспечивают взаимодействие бактерий с остатками маннозы на поверхности эпителиальных клеток, например, в мочевыводящих путях. Способность бактерий агглютинировать дрожжевые клетки *Saccharomyces cerevisiae* маннозочувствительным образом свидетельствует об экспрессии ими фимбрий I типа [Korhonen, 1979]. Случаи с положительной агглютинацией в присутствии маннозы обозначают как маннозорезистентная агглютинация дрожжей (MRYA). Отсутствие агглютинации в присутствии маннозы обозначается как маннозочувствительная агглютинация дрожжей (MSYA) [Mihaylova *et al.*, 2012].

**Цель:** Анализ способности уropатогенных штаммов *M. morganii* MM 1 и MM 190 к агглютинации дрожжевых клеток, а также исследование влияния среды, температуры культивирования и стадии роста бактерий на агглютинацию.

**Материалы и методы:** Агглютинацию дрожжей проводили методом слайдов, как описано у Шанкс и соавт. [Shanks *et al.*, 2007], с некоторыми модификациями. Бактерии выращивали на среде LB в термошейкере при 30 °C и 37 °C, 200 об/мин. Для опытов использовали бактерии на разных стадиях роста: на экспоненциальной фазе роста (8 и 10 ч), на ранней и поздней стационарной фазах роста (16 ч и 24 ч соответственно). Также бактерии выращивали на натуральной моче в термошейкере при 37 °C, 200 об/мин в течение 48 ч. Моча была получена от ребенка и стерилизована фильтрованием. На предметном стекле при комнатной температуре смешивали культуры бактерий в PBS с выравненной оптической плотностью с равным объемом суспензии дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (2% w/v PBS). В течение 10 минут наблюдали за появлением агрегатов как признака агглютинации. Агглютинацию оценивали, как: + (слабое), ++

(умеренное) или +++ (сильное). Для оценки влияния маннозы на агглютинацию ту же процедуру выполняли с добавлением 1% маннозы в PBS. Случаи с положительной агглютинацией в присутствии маннозы отмечали как маннозорезистентную агглютинацию дрожжей (MRYA), а отсутствие агглютинации в присутствии маннозы – маннозосенситивную агглютинацию дрожжей (MSYA).

**Результаты и обсуждение:** Показали, что при культивировании на LB оба штамма агглютинировали дрожжевые клетки на всех изученных часах роста, но разными способами: агглютинация дрожжей MM 1 была чувствительна к маннозе (MSYA), тогда как агглютинация MM 190 была резистентна к маннозе (MRYA). MSYA у MM 1 свидетельствует о наличии фимбрий I типа, которые способны связываться с маннозидсодержащими рецепторами на поверхности дрожжевых клеток. Фимбрии I типа являются наиболее распространенным фактором вирулентности уроизолатов, поскольку они необходимы для адгезии и инвазии уроэпителия мочевого пузыря. По данным литературы MRYA не является специфическим признаком определенного типа фимбрий или других адгезивных структур, поскольку постоянно появляются новые данные. Сообщается, что MRYA происходит в результате экспрессии разных типов фимбрий: P, FIC, Dr и/или S фимбрий [Mihaylova *et al.*, 2012]. Кроме того, в 2012 году [Stahlhut *et al.*, 2012] было обнаружено, что фимбрии 3-го типа у разных изолятов *K. pneumoniae* тоже агглютинируют дрожжи MR-образом. Можно предположить, что фимбрии типа MR/P могут агглютинировать дрожжи MR-образом поскольку они агглютинируют эритроциты MR-образом. Однако, в литературе нет данных о типе агглютинации дрожжей фимбриями MR/P типа.

Таким образом, MRYA у MM 190 может быть обусловлена многими вариантами адгезинов, и для их точного определения нужны более специфические молекулярные методы. В целом MRYA указывает на наличие MR-адгезинов у MM 190, которые, как указано во многих исследованиях, могут иметь потенциальное значение в патогенезе инфекций мочевыводящих путей.

Интересно отметить, что при росте бактерий на натуральной моче штамм MM 190 проявлял тот же тип агглютинации, что и при росте на LB. Однако бактерии штамма MM 1 при росте на моче поменяли тип агглютинации с маннозочувствительного на маннозорезистентный. Это может быть связано с уменьшением функции и экспрессии фимбрий I типа при росте бактерий в моче, как отмечено в исследовании у *UPEC* [Greene *et al.*, 2015]. Также нами было отмечено, что агглютинационная активность MM 190 всегда была выше, чем у MM 1 во всех вариантах эксперимента. Это согласуется с результатами по адгезии и образованию биопленок, когда штамм MM 190 всегда проявлял более высокие адгезивные свойства. Это может быть обусловлено двумя причинами: во-первых, более высоким уровнем экспрессии адгезивных структур у MM 190, во-вторых, наличием у MM 190 других типов адгезивных структур, которые опосредуют этот сильный уровень адгезии.

Температура культивирования не оказывала существенного влияния на агглютинационную активность двух штаммов. Также показали, что фаза роста незначительно влияла на агглютинационную активность штаммов. Только на ранней экспоненциальной фазе (8 ч) при 30 °C и 37°C агглютинация была слабее, чем на остальных часах роста бактерий. Это можно отнести к более низкому уровню экспрессии адгезивных структур на этой фазе роста. С 10 по 24 ч роста степень агглютинации не менялась, что позволяет предположить полную экспрессию адгезивных структур бактерий начиная с середины экспоненциальной фазы роста.

Таким образом, MM 1 и MM 190 способны к агглютинации дрожжей. MM 190 показали MRYA при культивировании на LB и моче. В случае MM 1 бактерии проявляли MSYA при росте на LB, MRYA – моче. Во всех вариантах агглютинационная активность MM 190 была выше, чем у MM 1. Температура культивирования и фаза роста не оказали существенного влияния на агглютинацию дрожжей.

#### Список литературы:

1. **Greene, S. E.** Human Urine Decreases Function and Expression of Type 1 Pili in Uropathogenic *Escherichia coli* [Text] / S. E. Greene, M. E. Hibbing, J. Janetka, S. L. Chen, S. J. Hultgren // MBio. –2015. – V.6.



2. **Korhonen, T.** Yeast cell agglutination by purified enterobacterial pili [Text] / T. Korhonen // FEMS Microbiol Lett. –1979. – V.6. – P. 421–5.
3. **Mihaylova, M.** Distribution of virulence determinants and biofilm-forming among clinical urinary isolates [Text] / M. Mihaylova, S. Kostadinova, M. Marhova // In J. BioSci. Biotech. –2012. – P. 45-51.
4. **Morgan, H. R.** Upon the bacteriology of the summer diarrhoea of infants [Text] / H. R. Morgan // Br Med J. – 1907. – V.2. – P. 908–12.
5. **Proft, T.** Pili in Gram-negative and Gram-positive bacteria - structure, assembly and their role in disease [Text] / T. Proft, E. N. Baker // Cellular and Molecular Life Sciences : CMLS. –2009. – V.66. – P. 613–635.
6. **Shanks, R. MQ.** A *Serratia marcescens* OxyR homolog mediates surface attachment and biofilm formation [Text] / R. MQ. Shanks, N. A. Stella, E. J. Kalivoda, M. R. Doe, D. M. O'Dee, K. L. Lathrop, L. G. Feng, G. J. Nau // Journal of Bacteriology. – 2007. – V.189. – P. 7262–7272.
7. **Stahlhut, S. G.** *Klebsiella pneumoniae* type 3 fimbriae agglutinate yeast in a mannose-resistant manner [Text] / S. G. Stahlhut, C. Struve, K. A. Krogfelt // Journal of Medical Microbiology. – 2012. – V.61. – P. 317–322.

## ВЛИЯНИЯ ИСТОЧНИКОВ УГЛЕРОДА НА УРОВЕНЬ ИНГИБИРОВАНИЯ $\alpha$ – АМИЛАЗЫ ЭНДОФИТНЫМИ МИКРОМИЦЕТАМИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ УЗБЕКИСТАНА

И.И.Мухаммедов, Д.М.Рузиева, С.М.Насметова, Г.А.Расулова, Т.Г.Гулямова

НИИ Микробиологии АН РУЗ, г. Ташкент, Узбекистан

Нарушения углеводного обмена лежат в основе таких социально значимых патологий как сахарный диабет 2 типа (СД2). В настоящее время в арсенал применяемых в терапии антигипергликемических пероральных препаратов входят ингибиторы  $\alpha$ -глюкозидазы и  $\alpha$ -амилазы. Механизм фармакотерапевтического действия ингибиторов альфа-амилазы основан на блокирующем эффекте  $\alpha$ -амилазы - фермента, ответственного за расщепление сложных углеводов пищи на полисахариды. На фоне приема ингибиторов  $\alpha$ -амилазы в комплексной терапии у пациентов с СД2 отмечена положительная динамика показателей углеводного и липидного обмена, тенденция к нормализации артериального давления (1).

В лаборатории биохимии и биотехнологии физиологически активных соединений Института Микробиологии АН РУЗ на протяжении пяти лет проводятся исследования по изучению эндофитной микробиоты лекарственных растений Узбекистана. В результате проведенных исследований установлено, что вторичные метаболиты отобранных эндофитных микроорганизмов представлены соединениями различных химических классов таких как гликозиды, танины, терпены, полифенолы и сапонины, среди которых есть конкурентные и неконкурентные ингибиторы  $\alpha$  – амилазы.

На наш взгляд, особый практический интерес представляют микромицеты лекарственных антидиабетических растений, синтезирующих те же самые вещества что и растение-хозяин. Установлено, что самый высокий уровень подавления  $\alpha$ -амилазы в пределах 60-80%, сравнимый с действием коммерческого ингибитора гликозидаз - Акарбозы, принадлежит эндофитным грибам, выделенным из растений *Helianthus tuberosus* и *Celosia cristata*, и идентифицированных как *Penicillium sp.* - CC200 и *Aspergillus egypticus* - HT166S (2).

Известно, что главным регуляторным фактором оптимального биосинтеза целевых вторичных метаболитов является тщательный подбор состава питательных сред, источников углеродного и азотного питания и условий ферментации продуцентов. В результате скрининга сред и в качестве базовой отобрана среда Чапека-Докса, обеспечивающая наиболее высокий выход вторичных метаболитов с гипогликемической активностью (3).

В этой связи, целью дальнейших исследований стало определение оптимальных параметров культивирования штаммов, исследование влияния различных источников углеродного питания и их количества на продукцию натуральных вторичных метаболитов с гипогликемическими свойствами.

Штаммы растили в 1,0 л колбах при глубинном и стационарном культивировании на жидкой среде Чапека при 28°C в присутствии различных источников углеродного питания – с 2%-ми лактозой, глюкозой и сахарозой в течение 7 суток. По окончании ферментации в сухом экстракте, полученном экстрагированием биомассы этилацетатом, по методу Pavithra N. и др. определяли уровень ингибирования  $\alpha$ -амилазы (4).

В результате экспериментальных исследований показано, что условия глубинного культивирования штаммов по сравнению со стационарным более благоприятны для роста штаммов, накопления биомассы и продуцирования вторичных метаболитов – ингибиторов  $\alpha$ -амилазы.

При исследовании влияния источников углеродного питания установлено, что среды с сахарозой, по сравнению с лактозой и глюкозой, способствуют лучшему продуцированию вторичных метаболитов с ингибиторной активностью. При этом степень ингибирования  $\alpha$ -амилазы в штаммах *Penicillium sp.* - CC200 и *Aspergillus egypticus* - HT166S максимально составляет 85% и 83%, по сравнению с 18,5% и 25% при использовании глюкозы и лактозы, соответственно.

При изучении различных концентраций сахарозы (2%, 4%, 6%, и 8%) в составе среды Чапека установлено, что максимальный выход вторичных метаболитов с ингибиторной активностью происходит при концентрации 60 г/л и составляет 88,7%. Следует отметить, что максимальный выход исследуемых метаболитов наблюдается в конце стационарной фазы роста культур и происходит при полном истощении источников углерода в среде.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что при культивировании эндофитных микромицетов оптимизацией питательных сред по источникам углеродного питания возможно значительное увеличение синтеза вторичных метаболитов - ингибиторов  $\alpha$ -амилазы, что открывает новые перспективы получения натуральных и эффективных препаратов гипогликемического назначения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Камынина Л.Л. Роль и место ингибиторов  $\alpha$ -амилазы в комбинированном лечении сахарного диабета 2 типа. Автореферат диссертации. Москва, 2012 г. <https://www.dissercat.com>.
2. Ruzieva D.M., Abdulmyanova L.I., Khasanov Kh.T., Rasulova G.A., Gulyamova T.G. Screening of Inhibitory Activity against  $\alpha$ -Amylase of Fungal Endophytes Isolated from Medicinal Plants in Uzbekistan. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences : Vol. 6, N 4 (2017) pp.274 4-2752.
3. Рузиева Д.М., Абдульмянова Л.И., Расулова Г.А., Гулямова Т.Г. «Влияние состава питательных сред на ингибиторную активность эндофитных грибов *Helianthus tuberosus*», : ДАН.-Ташкент.- 2017.- Вып. №3,- с. 28-37.
4. Pavithra N., Sathish L., Babu N., Venkatarathanamma V., Pushpalatha H., Reddy G.B., Ananda K. Evaluation of  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase and aldose reductase inhibitors in ethyl acetate extracts of endophytic fungi isolated from antidiabetic medicinal plants. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 2014; Vol. 5(12): 5334-5341.

## ОБЕСПЕЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ НАСЕЛЕНИЯ

М.А.Патяшина, Л.Г.Авдоница, Л.Т.Гараева, Р.Х.Хайруллин

Управление Роспотребнадзора по Республике Татарстан, Казань, Россия

Биологическая безопасность - самостоятельное направление в области национальной и международной безопасности.

На формирование глобальных угроз биологической безопасности оказывают влияние множество факторов и вопросы противодействия этим угрозам приобретает все большее значение в современном мире.

Государственная система биологической безопасности является важной составной частью системы национальной безопасности и представляет собой систему организационных и технических мер, направленных на предотвращение ущерба и достижение защищенности личности, общества и государства от потенциальных и реальных биологических угроз путем естественного или преднамеренного поражения такими биологическими агентами, как бактерии, вирусы, грибы, простейшие или их токсинами.

При реализации государственной политики обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия особое значение имеет защита используемых коллекций возбудителей инфекционных болезней человека и животных, являющихся потенциальными объектами биотерроризма.

В соответствии с Федеральным Законодательством о лицензировании отдельных видов деятельности деятельность в области использования возбудителей инфекционных заболеваний человека и животных относится к лицензируемым видам деятельности, поскольку осуществление указанных работ может повлечь за собой нанесение ущерба правам, законным интересам, жизни или здоровью граждан, окружающей среде, обороне и безопасности государства.

Государственное регулирование лицензирования деятельности в области использования возбудителей инфекционных заболеваний человека и животных введено в 1996 г. и закреплено за Роспотребнадзором.

На территории Республики Татарстан 93 лицензиата, 8 филиалов юридических лиц, деятельность которых осуществляется на территории нескольких субъектов Российской Федерации, 3 ведомственных организации проводят работы в области использования возбудителей инфекционных заболеваний человека и животных. Имеют лицензии на медицинскую деятельность 36 медицинских организаций, в рамках которой осуществляются работы с биологическими веществами, биологическими и микробиологическими организмами и с возбудителями инфекционных заболеваний III-IV групп патогенности.

В ходе осуществления контроля за хозяйствующими субъектами, осуществляющими работы с микробиологическими организмами и с возбудителями инфекционных заболеваний, специалистами Управления Роспотребнадзора по Республике Татарстан особое внимание обращается на выполнение требований биологической безопасности, обеспечение мер по повышению антитеррористической защищенности объектов посредством соблюдения условий хранения и охраны культур коллекций микроорганизмов, правил допуска персонала к работе с патогенным биологическим агентом.

За период с 2017 года в отношении лицензиатов, осуществляющих деятельность в области использования возбудителей инфекционных заболеваний человека и животных, проведено 70 проверок. Возбуждено 132 административных производств, судами общей юрисдикции Республики Татарстан наложено штрафов на сумму 1326,3 тыс. руб., приостановлена деятельность лабораторий 5 хозяйствующих субъектов на 30, 45, 90 суток соответственно, в связи с чем, приказами Роспотребнадзора приостановлено действие их лицензий.

По итогам проверок даны предписания, выполнение которых перепроверяется по мере истечения сроков исполнения.

Соблюдение хозяйствующими субъектами мероприятий, направленных на обеспечение личной и общественной безопасности, защиту окружающей среды, своевременное исполнение предписаний об устранении выявленных нарушений, позволило не допустить выход патогенов во внешнюю среду и умышленное применение их с террористическими целями, в том числе при проведении массовых мероприятий с международным участием.

## **ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ВОЗДУШНОЙ СРЕДЫ НА УСЛОВИЯ ОБУЧЕНИЯ СТУДЕНТОВ В ВУЗе**

*Л.Н.Растатурина*

ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, г. Казань, Россия

Физические и микробиологические факторы воздушной среды учебных аудиторий в ВУЗе влияют на самочувствие студентов, их работоспособность, могут быть причиной возникновения заболеваний. Значительную часть времени студенты проводят в учебном заведении и их обучение происходит при постоянном воздействии этих факторов.

Изучались условия обучения студентов в ВУЗе в зимний период (декабрь-февраль). . оценка проводилась по нормативным документам ГОСТ30494-2011 «Здания жилые и общественные. Параметры микроклимата в помещении» и СНиП 31-06-2008 «Общественные здания и сооружения».

Было установлено, что температурный режим не соблюдается практически во всех исследуемых аудиториях на  $3-4^{\circ}$ . При оптимальной температуре по нормативной документации  $20-22^{\circ}\text{C}$ , она составляла  $25-26^{\circ}\text{C}$ . Относительная влажность по нормативам оптимальная 30-45%, допустимая 60%. Влажность соответствовала оптимальной лишь в одной учебной аудитории (36-38%). В остальных – влажность была ниже допустимых значений (25-28%). Согласно нормативной документации оптимальная подвижность воздуха 0,15м/с, допустимая 0,2м/с. Во всех изученных нами аудиториях скорость движения воздуха ниже оптимальных значений – 0,01-0,02м/с.

Определялось содержание  $\text{CO}_2$  в учебных аудиториях. В ходе исследования оказалось, что содержание  $\text{CO}_2$  соответствовало ПДК в начале занятия и после сквозного проветривания. Буквально через 5 минут после проветривания содержание  $\text{CO}_2$  возрастало в разных учебных аудиториях в зависимости от количества учащихся в среднем в 1,5 раза, максимально в 2,5 раза. К концу занятий содержание  $\text{CO}_2$  превышало ПДК в 3,5-3,6.

Полученные данные можно объяснить тем, в соответствии с нормативной документацией площадь основных учебных помещений учреждений высшего профессионального образования, рассчитанных на 12-15 человек должна составлять 2,5 м<sup>2</sup>, на 25 человек – 2,2 м<sup>2</sup> на 1 учащегося. Воздушный куб должен быть равен не менее 20м<sup>3</sup>/ч наружного воздуха на одно место по притоку или кратность воздухообмена не менее 2.

При расчете на 25 студентов потребная величина воздухообмена должна составлять 500м<sup>3</sup>, кратность воздухообмена пятикратная; на 14 человек - 280м<sup>3</sup>, кратность – трехкратная по притоку чистого воздуха. Согласно нашим расчетам кратность воздухообмена составила 1,1- 1,3 раза, что не отвечает требованиям в 2-4 раза.

Необходимо отметить, что при данных условиях возрастает микробная нагрузка на воздушный куб. В закрытых помещениях, в данном случае учебных аудиториях, источником загрязнения воздуха являются люди и их микрофлора. Микроорганизмы находятся на коже, носоглотке, верхних дыхательных путях и др. Попадают в воздух при разговоре, кашле, чихании и находятся во взвешенном состоянии или оседают на пылинки и длительное время могут охранять жизнеспособность. Увеличивается риск возникновения и распространения инфекционных заболеваний, прежде всего передающихся воздушно-капельным путем.

Таким образом, для сохранения высокой работоспособности, хорошего самочувствия, снижения заболеваемости необходимо создавать комфортные условия обучения студентов в ВУЗе.

# РОЛЬ КОРИНЕФОРМНЫХ БАКТЕРИЙ В РАЗВИТИИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА

А.Н.Савинова

ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, г. Казань, Россия

К роду *Corynebacterium* относят более 20 видов, среди которых есть непатогенные, условно-патогенные и патогенные для человека и животных.

Коринебактерии - грамположительные тонкие палочки, имеющие вид булавы за счет одного утолщенного конца. Могут быть полиморфными: обнаруживают также клиновидные, кокковидные и нитевидные формы. Палочки располагаются в виде палисада или под углом друг к другу в виде китайских иероглифов. Характерно наличие в клетках метакристаллических гранул – волутиновых зерен (тельца Бабеша- Эрнста). Неподвижны, спор не образуют. Факультативные анаэробы, непатогенные виды способны расти на основных питательных средах, патогенные бактерии – на в сывороточных или кровяных средах при температуре 37 °С.

Некоторые виды коринебактерий обитают в окружающей среде (в почве, воде, пыли). Их можно обнаружить также в организме клинически здоровых лиц. *C.Pseudodiphtheriticum* – палочка Хофманна. Является представителем нормальной микрофлоры слизистых носа, зева, влагалища, глаз у 60-70% здоровых лиц.

*C. xerosis* также обнаруживают на коже и слизистой носовой полости здоровых людей.

Обнаружены также условно-патогенные виды, такие как, *C. jeikeium*, *C. urealiticum*, *C. minutissimum*, *C.ulcerans*. Могут быть выделены со слизистых оболочек носоглотки, влагалища, кожи клинически здоровых лиц.

*C. jeikeium* иногда приводит к развитию кожных поражений, эндокардитов, пневмонии на фоне иммунодефицита или антибиотикотерапии. *C. minutissimum* вызывает заболевания кожи в виде сыпи. Штаммы *C. urealiticum* были выделены у пациентов с пиелонефритом, циститом. Бактерии вида *C.ulcerans* могут выделены у здоровых лиц, а также у пациентов с симптомами фарингита, тонзиллита, синусита, пневмонии и поражения кожи.

Патогенным видом является *C. diphtheriae* - возбудитель дифтерии, основным фактором патогенности которого является белковый экзотоксин.

Не все штаммы возбудителя дифтерии способны вырабатывать экзотоксин. Токсигенные штаммы являются лизогенными, то есть инфицированы умеренным  $\beta$ -фагом, привносящим бактериям структурный токсический ген, кодирующий продукцию экзотоксина. Действие экзотоксина приводит к развитию местных и системных поражений, приводящих в некоторых случаях к летальному исходу. Для микробиологического подтверждения диагноза необходимо выделение возбудителя и выявление токсинообразования.

В некоторых случаях от пациентов с симптомами дифтерии были выделены штаммы *C.ulcerans*, что воспринималось как здоровое носительство. Впрочем, было известно о заболеваниях животных (сельскохозяйственных и домашних питомцев), вызванных *C.ulcerans*.

В последние годы все чаще появляются сообщения о выделении от больных с дифтериеподобными заболеваниями токсигенных штаммов *C.ulcerans*, причем в большинстве случаев пациенты были полностью или частично вакцинированы против дифтерии [1,2]. Инфицирование людей произошло вследствие контакта с животным или из-за употребления сырого коровьего молока [3,4]. Благодаря разработанным способам выявления токсинообразования разными видами коринебактерий, удалось установить, что большое количество штаммов *C.ulcerans*, выделенных от пациентов, являются токсигенными [5].

Сообщалось о спорадических случаях дифтериеподобных заболеваний, вызванных *C.ulcerans*, не носящих характера вспышек или эпидемий. Источником инфекции, как правило, были животные.

Однако, опубликованы описания клинических случаев, позволяющих предположить передачу токсигенных штаммов *C.ulcerans* от человека к человеку [6].

## Литература

1. Bonmarin, I., Guiso, N., Le Flèche-Matéos, A., Patey, O., Patrick, A.D., and Levy-Bruhl, D. Diphtheria: a zoonotic disease in France?. *Vaccine*. 2009; 27: 4196-4200
2. Wagner, K.S., White, J.M., Crowcroft, N.S., De Martin, S., Mann, G., and Efstratiou, A. Diphtheria in the United Kingdom, 1986–2008: the increasing role of *Corynebacterium ulcerans*. *Epidemiol Infect.* 2010; 138: 1519-1530
3. Schuëgger, R., Schoerner, C., Długaiczek, J., Lichtenfeld, I., Trouillier, A., Zeller-Peronnet, V. et al. Pigs as source for toxigenic *Corynebacterium ulcerans*. *Emerg Infect Dis* 2009; 15: 1314–1315
4. Berger, A., Huber, I., Merbecks, S.S., Ehrhard, I., Konrad, R., Hörmansdorfer, S. et al. Toxigenic *Corynebacterium ulcerans* in woman and cat. *Emerg Infect Dis.* 2011; 17: 1767–1769
5. Konrad, R., Berger, A., Huber, I., Boschert, V., Hörmansdorfer, S., Busch, U. et al. Matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry as a tool for rapid diagnosis of potentially toxigenic *Corynebacterium species* in the laboratory management of diphtheria-associated bacteria. *Euro Surveill.* 2010; 15: 19699
6. R. Konrad, S. Hörmansdorfer, A. Sing. Possible human-to-human transmission of toxigenic *Corynebacterium ulcerans*. *Clinical Microbiology and Infection* August, 2015; 21 : 768-771

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКИ ГЕМОФИЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ ТИПА b

А.Н. Савинова

ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, г. Казань, Россия

Возбудителем гемофильной инфекции является *Haemophilus influenzae*. Гемофильная инфекция протекает с симптомами гнойного процесса чаще всего остро, однако, возможно длительное течение заболевания. Клинические проявления связаны с локальными поражениями респираторного тракта или системными инвазивными заболеваниями. Местное поражение дыхательных путей приводит к развитию катарального конъюнктивита, острого среднего отита. Вследствие диссеминирования возбудителя появляются симптомы бактериемии, пневмонии, эндокардита, септического артрита, целлюлита, септицемии.

Наиболее опасными клиническими формами являются бактериальный гнойный менингит и острый эпиглоттит. *Haemophilus influenzae* является основным возбудителем, вызывающим бактериальный гнойный менингит у детей младшего возраста. В таких случаях прогноз заболевания может быть неблагоприятным, приводящим к летальному исходу.

Возбудитель гемофильной инфекции был выделен М.И. Афанасьевым (в 1891 году) и Р. Пфайффером (в 1892 году) из материала, полученного от больного гриппом (палочка Афанасьева-Пфайффера). *Haemophilus influenzae* – мелкие грамотрицательные неподвижные палочки (коккобациллы), иногда располагающиеся попарно или в виде цепочек. Представители некоторых штаммов имеют полисахаридную капсулу. Растут в аэробных условиях при температуре 37 °С, некоторые штаммы являются капнофилами. Обязательно наличие в среде двух компонентов: X и V. Термостабильный фактор X (гемин) содержится в эритроцитах, термолабильный фактор V является коферментом (НАД или НАДФ). В среду вносят кровь, прогретую при 80 °С в течение 15 минут с целью разрушения эритроцитов. На шоколадном агаре некапсулированные штаммы образуют зернистые, серовато-белые R-колонии. Капсулированные штаммы вырастают в виде слизистых M-колоний или S-колоний. Штаммы различаются по биохимическим свойствам, выделяют 6 биоваров.

Антигенами *Haemophilus influenzae* являются липополисахариды и белки клеточной стенки (О-антиген). Белок М является общим у некапсулированных штаммов.

По антигенным свойствам полисахаридов капсулы различают 6 сероваров (a, b, c, d, e, f), каждый из которых содержит комплекс углеводов.

В 95% случаев заболеваний были выделены штаммы *Haemophilus influenzae* типа b ((Hib)). Капсула *Haemophilus influenzae* типа b содержит полирибозилрибитолфосфата (PRP), который освобождается при размножении этих бактерий в организме пациента, что используется при серологической диагностике гемофильной инфекции типа b.

Основными факторами патогенности являются эндотоксин, пили и капсула, подавляющая фагоцитоз. Бактерии также продуцируют IgA1-протеазы. Кроме того, выявлен синергизм между возбудителем гемофильной инфекции и некоторыми респираторными вирусами.

Некапсулированные штаммы вызывают местные поражения слизистой оболочки, инфицирование капсулированными штаммами приводит к развитию тяжелых системных инвазивных форм, таких как бактериальный гнойный менингит и септицемия.

Гемофильная инфекция является антропонозной. Передается возбудитель воздушно-капельным путем, реже - контактным. Палочка инфлюэнцы колонизирует слизистую верхних дыхательных путей, приводя к развитию бессимптомного бактерионосительства длительностью от нескольких дней до нескольких месяцев. Из носоглотки здоровых людей можно выделить *Haemophilus influenzae* в 90% случаев, чаще у детей младшего возраста. Выделение штаммов типа b составляет около 5%. Достаточно часто инфицирование приводит к появлению клинических симптомов. Заболевания, вызванные *Haemophilus influenzae* типа b, регистрируют в разных странах, в некоторых из них они являются эндемичными. Наиболее восприимчивыми являются дети в возрасте от 6 до 48 месяцев, инвазивные формы отмечают также у старшего возраста и взрослых. К группе риска относят лиц с серповидно-клеточной анемией, болезнью Ходжкина, агамма-глобулинемией, после перенесенной спленэктомии. В последние десятилетия возросло количество выявления инвазивной формы гемофильной инфекции типа b у взрослых.

Материалом для микробиологической диагностики являются кровь, спинно-мозговая жидкость, биоматериал из пораженного участка. Применяют микроскопический, культуральный, серологический и молекулярно-генетический методы.

Этиотропную терапию гемофильной инфекции проводят антибиотиками различных групп: цефалоспоринов, карбапенем и других.

В последнее время возрастает число антибиотикорезистентных штаммов *Haemophilus influenzae* типа b. Для проведения адекватной терапии необходимо выделение возбудителя и определение чувствительности бактерий к антибиотикам, что требует определенного времени. При острых формах гемофильной инфекции могут развиваться осложнения, опасные для жизни пациента.

Согласно рекомендациям ВОЗ вакцинация детей первых месяцев жизни против гемофильной инфекции типа b должна проводиться во всем мире [1].

Снижение уровня заболеваемости вследствие проводимой вакцинопрофилактики было отмечено во многих странах [2].

Для специфической профилактики гемофильной инфекции типа b разработаны моновалентные вакцины, содержащие капсульный полисахарид *Haemophilus influenzae* типа b, конъюгированный с белком столбнячного анатоксина ("Акт-ХИБ", "Хиберикс"), а также комбинированные вакцины для профилактики дифтерии, столбняка, коклюша, полиомиелита, гепатита В и инфекции, вызываемой гемофильной инфекцией типа b ("Инфанрикс Гекса", "Пентаксим").

В Российской Федерации вакцинацию против гемофильной инфекции типа b проводят в соответствии с Приказом Министерства здравоохранения РФ от 21 марта 2014 г. N 125н «Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям» детям в возрасте 3, 4, 5 и 6 месяцев с последующей ревакцинацией в 18 месяцев.

Вакцинации подлежат дети, относящиеся к группе риска.

Поскольку уровень заболеваемости гемофильной инфекцией типа b возрастает не только среди детей, но и взрослых, целесообразным является проведение вакцинации всех детей с первых месяцев жизни.

Литература

1. Global Programme for Vaccines and Immunization. WHO Position Paper on Haemophilus influenzae type b conjugate vaccines. Weekly Epidemiol. Rec., 1998, 6 March, v.73, p.64.
2. State of the World's vaccines and Immunization, WHO, Geneva, 2002, pp 39-41.

## ВИДОВОЙ СОСТАВ И ИНФИЦИРОВАННОСТЬ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ НОСИТЕЛЕЙ И ПЕРЕНОСЧИКОВ ГЛПС В ПРИВОЛЖСКОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ

Т.А.Савицкая, И.В.Серова, В.А.Трифонов

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

В 2018 году в Российской Федерации было зарегистрировано 5855 случаев ГЛПС интенсивный показатель на 100 тысяч населения составил 3,99.

Среди всех регионов страны в Приволжском федеральном округе (ПФО) уровень заболеваемости ГЛПС остается наиболее высоким. В 2018 году в округе было зарегистрировано 4541 случай ГЛПС, показатель на 100 тыс. населения составил 15,3. В 5 субъектах округа отмечался наиболее высокий уровень заболеваемости по стране: Удмуртская Республика – 41,99 на 100 тыс. населения; Республика Башкортостан – 27,16; Пензенская область – 25,65; Республика Марий Эл – 19,85; Республика Мордовия – 17,57.

На территории Европейской части России ГЛПС вызывают хантавирусы: *Пуумала* и два геноварианта вируса *Добрава-Белград* – вирусы *Куркино* и *Сочи*. Природными резервуарами для вируса *Пуумала* является рыжая полёвка (*Myodes glareolus*). В ПФО среди мышевидных грызунов циркулирует в основном вирус *Пуумала*.

На территории Российской Федерации кроме шести патогенных циркулируют пять видов непатогенных или условно патогенных для человека хантавирусов - *Тула*, *Адлер*, *Хабаровск*, *Хоккайдо* и *Топографов*. Основными носителями хантавируса *Тула* и его геноварианта *Адлер* в Европейской части Российской Федерации являются обыкновенная (*Microtus arvalis*) и кустарниковая (*Microtus majori*) полевки. Некоторые другие виды грызунов, широко распространенные на очаговой территории, в частности красная полевка (*Myodes rutilus*), домовая (*Mus musculus*) и малая лесная мышь (*Apodemus uralensis*) к настоящему времени не являются резервуарными хозяевами известных хантавирусов. В период активизации природных очагов они могут инфицироваться возбудителями ГЛПС в результате переброса хантавирусов от их основных природных хозяев.

В тех случаях, когда места обитания основных и неосновных хозяев совмещаются, на одной территории могут сосуществовать паразитарные системы двух или более патогенных и/или непатогенных хантавирусов. В европейской лесостепи это вирусы *Добрава-Белград* (*Куркино*), *Тула* и/или *Пуумала*.

В европейской части Российской Федерации более 98% случаев ГЛПС этиологически обусловлены вирусом *Пуумала*. Наиболее активная очаговая территория в Европейской части расположена в оптимуме ареала основного хозяина вируса *Пуумала* - рыжей полёвки – в широколиственных и хвойно-широколиственных лесах Среднего Поволжья и Приуралья. Почти 90% всех регистрируемых в Российской Федерации случаев ГЛПС приходится на Приволжский федеральный округ. Ежегодная заболеваемость здесь достигает, в среднем, 15 на 100 тыс. населения.

В 2018 году в ПФО было отловлено и лабораторно исследовано на инфицированность хантавирусами 4939 особей мышевидных грызунов. Из них инфицированными хантавирусами оказались 359 особей (7,3%). Видовой состав отловленных мышевидных грызунов был представлен следующим образом: рыжая полёвка составила 47,6%, полевая мышь – 8,0%, малая лесная мышь – 23,8%, полёвка обыкновенная – 5,6%, красная полёвка – 0,1%, бурозубка – 3,2%, прочие виды – 11,7%. Среди представленных видов наиболее инфицированными хантавирусами



оказались рыжая полёвка – 9,8% и полевая мышь – 9,0%. Остальные виды мышевидных грызунов были инфицированы возбудителями ГЛПС на 2-5%.

Таким образом, лабораторные исследования проведенные в 2018 году подтверждают доминирование рыжей полёвки в популяции мышевидных грызунов в ПФО (47,6%). Отмечен высокий уровень инфицированности рыжих полёвок хантавирусами (9,8%), носителей хантавируса *Пуумала*. Наряду с этим инфицированность полевой мыши хантавирусами достигла 9,0%. Известно, что полевая мышь является основным носителем хантавирусов Добrava-Белград. В связи с этим проведение дальнейших лабораторных исследований на инфицированность хантавирусами мелких млекопитающих требует определения разновидности циркулирующих среди них возбудителей ГЛПС.

## **СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ЛЕПТОСПИРОЗА В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН**

*Т.А.Савицкая<sup>1</sup>, В.А.Трифонов<sup>1,2</sup>, Г.Ш.Исаева<sup>1</sup>, И.Д.Решетникова<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>ФБУН "Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии"

<sup>2</sup>Казанская государственная медицинская академия - филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО  
Минздрава России

Заболеваемость лептоспирозом в Республике Татарстан регистрируется с 1957 года. Показатель заболеваемости за все годы регистрации колебался от 0,03 до 4,1 на 100 тыс. населения. В основном выявлялись единичные случаи лептоспироза и лишь в отдельные годы регистрировались групповые заболевания, чаще всего связанные с купанием в малопроточных водоёмах.

Среднемноголетняя заболеваемость лептоспирозом за последние 20 лет в республике составила 0,2 на 100 тыс. населения, тогда как по Российской Федерации этот показатель составляет 0,5 на 100 тыс. населения. Эпидемические подъемы заболеваемости были отмечены в 2001 году – 58 случаев и в 2004 году – 26 случаев. В 2001 году была зарегистрирована вспышка заболеваний лептоспирозом в Верхне-Услонском районе Татарстана, с количеством заболевших 53 человека, связанная с купанием в озере.

В последующие годы число заболевших лептоспирозом резко снизилось, выявлялись лишь единичные случаи в 2005, 2008, 2010 годах (по одному случаю) и в 2017 году – 4 случая.

В Республике Татарстан ежегодно проводится мониторинг за природными очагами лептоспироза, осуществляются выезды в административные районы республики, ежегодно обследуются от 10 до 16 районов, отбирается материал для лабораторных исследований – мелкие млекопитающие, вода и т.п.

Сообщество мелких млекопитающих на территории природных очагов лептоспироза в республике состоит из рыжей и обыкновенной полёвки, полевой и желтогорлой мыши, малой лесной мыши, бурозубки. Преобладает в данном сообществе рыжая полёвка, средний индекс доминирования составляет 66,7%. Однако её доминирование отмечается в лесокустарниковых и околородных стациях: 66,0% и 35,0% соответственно. Тогда как в луго-полевых стациях чаще встречается полевая мышь (49,0%).

Всего за период 2013-2017гг было лабораторно исследовано на лептоспироз 1255 особей грызунов, положительный результат на наличие антител к возбудителю лептоспироза составил 4% от числа исследованных проб. Из воды и других субстанций положительных результатов не было.

Наиболее высокий уровень инфицированности грызунов лептоспирами был отмечен в 2017 году. В 16 районах Татарстана было отловлено для исследований 325 особей грызунов, из них положительный результат был выявлен в 43 пробах (13,2%).

Данные эпизоотологического мониторинга указывают на скрыто протекающий эпизоотический процесс в сообществе мышевидных грызунов. В связи с этим, в целях недопущения заболеваний лептоспирозом среди людей, мониторинг состояния природных очагов лептоспироза в республике должен быть продолжен.

# ОЦЕНКА ИНДУЦИРОВАННОГО ДЕКСАМЕТАЗОНОМ СОСТОЯНИЯ ИММУНОСУПРЕССИИ В ОРГАНИЗМЕ НЕЛИНЕЙНЫХ МЫШЕЙ

*А.А.Смирнов, Н.В.Богачева*

ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России, кафедра микробиологии и вирусологии, г. Киров, Россия

**Актуальность.** Глюкокортикоиды (ГК) – одна из наиболее часто применяемых групп фармакологических препаратов. Они обладают мощным противовоспалительным, противоаллергическим, противошоковым и иммуносупрессивным эффектами. Наличие рецепторов для ГК почти во всех клетках организма обосновывает широкое их использование в современной медицине. Дексаметазон, как представитель данной фармакологической группы, является препаратом выбора для таких нозологических форм, как шок различного генеза, отек головного мозга, бронхиальная астма, системные заболевания соединительной ткани, аутоиммунные заболевания почек, а в комбинации с цитостатиками – для лечения злокачественных новообразований легких и др. [1].

Иммунодепрессивное действие ГК, в том числе и дексаметазона, используется и для экспериментальных целей. Подавляющее действие препарата на иммунную систему можно применить для получения модели иммуносупрессии и отработки схем лечения антропонозных инфекций на лабораторных животных, а также для оценки лечебного эффекта иммуномодуляторов нового поколения [2, 3, 4].

**Цель.** Оценить индуцированное дексаметазоном состояние иммуносупрессии в организме нелинейных мышей.

**Материалы и методы.** В работе использовались 20 нелинейных мышей обоего пола весом 15-20 г., полученные из вивария ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России, г. Киров: 10 контрольных и 10 опытных. При работе соблюдались морально-этические принципы проведения биомедицинских экспериментов на животных.

Для создания иммуносупрессии применялся дексаметазон в ампулах 4 мг/мл (ОАО «ДАЛЬХИМФАРМ», Хабаровск).

При проведении спленэктомии использовались: аутопсийный столик с восковой подкладкой, фиксирующие иглы, тупоконечные ножницы Купера, хирургические пинцеты, корнцанги, чашки Петри, пробирки типа «Эппендорф» («Eppendorf», Германия), ситечки для процеживания суспензий клеток, пластиковые пробирки V=15 мл («Gongdong», Китай), раствор Хэнкса (HBSS) с кальцием и магнием («Thermo Fisher Scientific», США), лабораторные весы («Mercury Equipment», Россия), 96% этиловый спирт (ГОСТ 18300-87).

Для выделения лимфоцитов селезенки лабораторных животных использовались: раствор фиколл-урографина  $\rho=1,083$  г/мл («ПанЭко», Россия), фосфатно-солевой буфер с pH 7,2-7,4 («Росмедбио», Россия), одноканальные автоматические пипетки V=2,5-10 мкл, 200 мкл, 1000 мкл («Eppendorf» Германия), центрифужные пробирки («Gongdong», Китай), настольную центрифугу («Beckman Coulter», США).

Микроскопический метод исследования и количественная оценка выделенных из селезенки клеток проводились в камере Горяева («Росмедбио», Россия), используя световой микроскоп («Микмед-2», Россия).

Количественное содержание лимфоцитов в периферической крови животных определялось на проточном цитофлуориметре «Navios» («Beckman Coulter», США) с использованием моноклональных антител (МкАТ) CD45PE-Cy5, CD3-PE-Cy7, CD4-APC, CD19-FITC («Beckman Coulter», США). Абсолютное количество лимфоцитов подсчитывалось с использованием референсных частиц Flow-CountFluorospheres («BeckmanCoulter», США).

Статистическую обработку результатов проводили, используя пакет прикладных программ «Statistica 10». Статистическая значимость оценивалась по t-критерию Стьюдента. Материал

представлен в виде  $M \pm m$ , где  $M$  – выборочное среднее;  $m$  – ошибка среднего. Критерием достоверности считали  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждения.** Разработанный протокол эксперимента включал 2 этапа. На первом этапе (теоретико-аналитический этап) была рассчитана доза дексаметазона. При этом мы отталкивались от максимальной терапевтической дозы для человека (0,1 мг/кг в сутки), пересчитывая ее на лабораторное животное – нелинейную белую мышь. При расчете использовали данные ранее проведенных исследований [5, 6]. В результате доза дексаметазона с учетом общестатистического веса мыши составила 40 мкг препарата на животное [7].

На втором этапе (эмпирический этап) проводили введение дексаметазона – 10 животным в опытной группе, стерильного раствора натрия хлорида – 10 животным в контрольной группе. Дексаметазон вводили трехкратно по 0,1 мл, содержащему 40 мкг препарата, внутривентриально. На четвертый день контрольную и экспериментальную группы подвергали эвтаназии, используя диэтиловый эфир. После наступления биологической смерти животным проводили лапаротомию с последующим извлечением селезенки. Полученную селезенку помещали в пробирку типа «Эппендорф» и взвешивали на аналитических весах. После взвешивания селезенку помещали в металлическое сито из нержавеющей стали и измельчали стерильным пинцетом, при этом клетки переводили в суспензию холодным раствором Хэнкса.

Клеточную суспензию, полученную от каждой мыши, собирали стерильным шприцом и через иглу выпускали в промаркированные центрифужные пробирки, уравнивали раствором Хэнкса и центрифугировали при режиме 1500 об/мин в течение 10 мин.

Надосадочную жидкость после центрифугирования удаляли. Выделение клеток осуществляли, используя раствор фиколл-урографина с градиентом плотности  $\rho = 1,083$  г/мл.

Результат оценки влияния дексаметазона на морфологию селезенки и количественный уровень лимфоцитов в контрольной и экспериментальной группах показал, что масса селезенки ( $m_{\text{селез}}$ , г) и количество лимфоцитов ( $C_{\text{лимф}}$ , кл. $\cdot 10^8$ /мкл) на фоне введения дексаметазона статистически значимо не изменились ( $p > 0,05$ ): контроль –  $m_{\text{селез}} = 0,18 \pm 0,04$ ,  $C_{\text{лимф}} = 11,1 \pm 6,59$ , опыт –  $m_{\text{селез}} = 0,24 \pm 0,12$ ,  $C_{\text{лимф}} = 9,07 \pm 3,1$ .

Одновременно методом проточной цитофлуориметрии, используя МкАт, меченные флюорохромами, определяли абсолютное и относительное содержание лимфоцитов в периферической крови лабораторных животных.

Для этого до и на четвертый день после введения дексаметазона перед процедурой эвтаназии у каждого животного забирали по 50 мкл цельной крови из периорбитальной области в пробирку типа «Эппендорф», куда заранее добавляли по 2 мкл 0,01 М раствор этилендиаминтетраацетата. Процедуру подготовки крови к исследованию проводили в соответствии с инструкцией по применению МкАт.

Из полученных данных следует, что на фоне введения дексаметазона достоверно ( $p < 0,05$ ) снижалось общее количество всех популяций и субпопуляций лимфоцитов: абсолютное количество клеток (кл. $\cdot 10^3$ /мкл) в контрольной группы (опытной группы) для гранулоцитов/CD45 –  $12,8 \pm 1,0$  ( $11,2 \pm 2,4$ ), лимфоцитов/CD3+CD19+ –  $8,4 \pm 0,1$  ( $4,7 \pm 1,4$ ), Т-лимфоцитов/CD3+ –  $5,2 \pm 0,7$  ( $3,3 \pm 1,1$ ), В-лимфоцитов/CD19+ –  $2,4 \pm 0,3$  ( $1,5 \pm 0,3$ ), Т-лимфоцитов хелперов/CD4+ –  $3,3 \pm 0,2$  ( $2,5 \pm 0,2$ ), Т-лимфоцитов цитотоксических/CD8+ –  $2,1 \pm 0,2$  ( $0,8 \pm 0,1$ ). Снижение абсолютного количества лимфоцитов происходило преимущественно за счет Т-лимфоцитов, среди последних – за счет Т-лимфоцитов хелперов.

Динамика относительных показателей клеток соответствовала абсолютным значениям и свидетельствовала о сформировавшемся состоянии иммунодефицита в организме животных на фоне введения дексаметазона по заданной схеме: относительное количество клеток (%) в контрольной группы (опытной группы) для гранулоцитов/CD45 –  $96,5 \pm 1,2$  ( $97,3 \pm 1,6$ ), лимфоцитов/CD3+CD19+ –  $65,4 \pm 3,5$  ( $49,5 \pm 2,4$ ), Т-лимфоцитов/CD3+ –  $61,93 \pm 3,4$  ( $52,9 \pm 2,8$ ), В-лимфоцитов/CD19+ –  $29,3 \pm 3,8 \pm 0,3$  ( $46,5 \pm 1,7$ ), Т-лимфоцитов хелперов/CD4+ –  $52,8 \pm 1,2$  ( $49,7 \pm 1,3$ ), Т-лимфоцитов цитотоксических/CD8+ –  $44,7 \pm 1,6$  ( $48,1 \pm 0,9$ ). На 7-й день значения большинства показателей у опытной группы достигли фоновых значений.

Кинетика клеточного цикла спленоцитов, компенсаторно-восстановительные (активизация репаративных систем) и рециркулирующие процессы лимфоцитов в организме лабораторных животных могли повлиять на отсутствие значимого изменения количества клеток в селезенке на фоне введения дексаметазона в противовес достоверному снижению Т- и В-лимфоцитов в периферической крови мышей.

Отсутствие количественной депрессии клеток в селезенке свидетельствует о сохраненном иммунном ответе в морфологически неповрежденном периферическом иммунном органе, что может быть использовано в качестве положительного момента при проведении экспериментальных исследований, например, для обеспечения наилучшей приживаемости бактериального или вирусного антигена при создании модели антропонозной инфекции в организме лабораторного животного.

#### **Выводы:**

1. На фоне введения дексаметазона достоверно значимых морфологических изменений селезенки не обнаружено ( $p > 0,05$ ). Со стороны клеток иммунной системы: достоверно ( $p < 0,05$ ) снижается общее количество всех популяций и субпопуляций лимфоцитов: снижение абсолютного количества лимфоцитов происходит преимущественно за счет Т-лимфоцитов, среди последних – за счет Т-лимфоцитов хелперов. Динамика относительных показателей клеток соответствует абсолютным значениям и свидетельствует о сформировавшемся состоянии иммунодефицита в организме животных на фоне введения дексаметазона по заданной схеме.

2. Теоретически обоснованная доза дексаметазона 40 мкг в сутки на животное при трехкратном введении получила экспериментальное подтверждение возможности разработать биологическую модель иммуносупрессии, оптимальную для воспроизведения и отработки схем лечения антропонозных инфекций на животных, а также для оценки эффективности иммунных препаратов нового поколения перед внедрением их в практическую медицину.

#### **Список литературы**

1. Комердус И.В., Будул Н.А., Чеканова А.В. Системное действие глюкокортикоидных препаратов: в помощь врачу общей практики (обзор литературы) // Русский медицинский журнал. – 2017. – № 25 (1). – С. 45-48.

2. Ковшик И.Г., Мельникова Е.В., Пантелеева Н.Г., Тендитник М.В., Шурлыгина А.В., Труфакин В.А. Влияние различных суточных режимов введения ИЛ-2 на иммунный статус мышей СВА в модели циклофосфановой иммуносупрессии // Аллергология и иммунология. – 2007. – № 8 (1). – С. 5.

3. Жамсаранова С.Д., Гонгаева А.Г. Оценка иммунобиологической эффективности аутолизатов селезенки яков на модели азатиоприновой иммуносупрессии // Acta Biomedica Scientifica. – 2012. – № 4-1 (86). – С. 190-192.

4. Мальдов Д.Г., Ильичев А.В., Лебединская Е.А., Фадеева Е.В., Лебединская О.В., Ахматова Н.К., Четвертных В.А., Годовалов А. П., Мелехин С. В., Киселевский М. В. Действие стимфорте на мононуклеарные лейкоциты и лимфоидные органы мышей на фоне введения циклофосфана // Медицинская иммунология. – 2011. – № №13 (2, 3). – С. 133-138.

5. Трахтенберг И.М., Сова Р.Е., Шефтель В.О., Оникиенко Ф.А. Проблема нормы в токсикологии (Современные представления и методические подходы, основные параметры и константы). – М.: Медицина, 1991. – 208 с.

6. Патент РФ № 2398596С2, 10.09.10. Скарнович М.О., Шишкина Л.Н., Сергеев А.Н., Кабанов А.С., Мазуркова Н.А., Даниленко Е.Д., Масычева В.И., Дроздов И.Г. Способы профилактики и лечения заболеваний, вызванных вирусом гриппа птиц А/Н5N1, с использованием индуктора интерферона и ингибитора нейроминидазы.

7. Богачева Н.В., Тунева Н.А., Смирнов А.А., Галямова Д.А., Попеску Л.И. Разработка биологической модели иммуносупрессии при помощи дексаметазона // Вятский медицинский вестник. – 2018. – № 4 (60). – С. 39-43.

#### **ОБСЕМЕНЕННОСТЬ ЗУБНОГО НАЛЕТА У ДЕТЕЙ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ ШКОЛЫ-ИНТЕРНАТА С НАРУШЕНИЯМИ СЛУХА И РЕЧИ**

*С.В. Соковнина<sup>1</sup>, М.В. Мосеева<sup>1</sup>, З.А. Мельчукова<sup>1</sup>, М.В. Кузьев<sup>2</sup>, Ф.В. Сафиуллина<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Ижевская государственная медицинская академия, г.Ижевск

<sup>2</sup>Бюджетное учреждение здравоохранения Удмуртской Республики «1 РКБ МЗ УР»

Полость рта человека - это биотоп, представленный самыми разнообразными микроорганизмами, численность и разнообразие которых определяется, как гомеостазом организма, так и внешним окружением.

Пищевые ресурсы полости рта, постоянная влажность и оптимальная температура создают благоприятные условия для адгезии, колонизации и размножения микроорганизмов.

Зубной налет является этиопатогенетическим фактором риска развития кариеса зубов и воспалительных заболеваний тканей пародонта, что подчеркивает актуальность проводимого нами исследования.

Целью работы стало изучение микрофлоры зубного налета у детей с нарушениями слуха и речи, находящихся в условиях социальной депривации.

На основе добровольного информированного согласия были обследованы 82 ребенка в возрасте 6-16 лет с нарушением слуха и речи коррекционной школы г. Ижевска «Муниципального казенного специального (коррекционного) образовательного учреждения для обучающихся, воспитанников с ограниченными возможностями здоровья «Специальная (коррекционная) общеобразовательная школа-интернат I, II, VI вида №15 города Ижевска Удмуртской Республики».

Изучение структуры микробиоценоза зубного налета осуществлено на базе бактериологической лаборатории БУЗ УР «1 РКБ МЗ УР» г. Ижевска.

Забор зубного налета для бактериологического исследования осуществлялся гладилкой с язычной стороны жевательных зубов нижней челюсти до осуществления утренней гигиены полости рта. Затем забранный материал переносился на стерильный тампон, который помещался в транспортную среду Эймса. В течение часа, в соответствии с Приказом 535 МЗ СССР (действующий), материал засевался на 5% кровяной агар, ЖСА, Эндо, агар Сабуро с хлорамфениколом, среду Шедлера с 5% кровью. Среда культивировали в термостате с температурой +36°C, среду Шедлера - в анаэробе (для изучения анаэробов). Чашки с 5% КА, средой Эндо просматривали через сутки. ЖСА, Шедлера - через двое суток, Сабуро - ежедневно, до 5 суток (со 2-х суток среду Сабуро инкубировали при температуре +22°C). Все колонии, выросшие анаэробно на среде Шедлера, рассевались на 2 чашки с этой же средой и инкубировались параллельно аэробно и анаэробно (тест аэротолерантности) с просмотром через 2-е суток. Идентификацию микробов проводили по всем свойствам до рода и вида.

Анализ микробного пейзажа детей с нарушениями слуха и речи показал, что в численном и видовом отношении преобладала грамположительная (Гр (+)) кокковая флора. Доминирующими видами были стрептококки (100 %). При этом у 92,68±2,88% обследуемых высевался *Str.viridans*, по 21,95±0,65% - *Str.mitis* и *Peptostreptococcus* spp. В значительном проценте наблюдений (47,56±1,55 %) в микрофлоре зубного налета присутствовал *CNS**Staphylococcus* spp. Дрожжеподобные грибы *Candida albicans* встречались в 13,41±0,75% анализов. В меньшем количестве (7,31±1,10%) была представлена бактериальная колонизация *Neisseria* spp. Наиболее редко (не более 5%) обнаруживались *Corynebacterium* spp., *Str. pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *E.coli*.

Монокультура была представлена только *Str.viridans* и встречалась у 15,85% исследуемых, тогда как у 84,14% микроорганизмы высевались в ассоциации: 11 человек (15,94%) - *Str.viridans* + *CNS**Staphylococcus* spp.; 11 человек (15,94%) - *Str.viridans* + *Str.mitis* + *CNS**Staphylococcus* spp; 7 человек (10,14%) - *Str.viridans* + *Peptostreptococcus* spp; 7 человек (10,14%) - *Str.viridans* + *Peptostreptococcus* spp. + *Candida albicans*; по 4 человека (5,79%) - *Str.viridans* + *CNS* *Staphylococcus* spp. + *Candida albicans*; *Str.viridans* + *Neisseria* spp. + *CNS* *Staphylococcus* spp; *Str.viridans* + *CNS* *Staphylococcus* spp. + *E.coli*; *Str.viridans* + *Str.mitis* + *CNS* *Staphylococcus* spp. + *Peptostreptococcus* spp; *Str.viridans* + *Neisseria* spp. + *Corynebacterium* spp. + *CNS* *Staphylococcus* spp.; *Corynebacterium* spp. + *Str. pneumoniae* + *Enterococcus faecium*; *Str.mitis* + *Peptostreptococcus* spp. + *Neisseria* spp.

Обсемененность зубного налета у всех исследуемых детей была высокой и соответствовала 3 и 4 степени. Наибольшая обсемененность отмечена *Str.viridans*. Так, у 79,26% исследуемых (65 детей) наблюдалась 4 степень обсемененности, у 9,75% (8 человек) - 3 степень.

Значительное место занимала обсемененность *CNS**Staphylococcus**spp*, составляющая 52,43% (43 человека). Из них у 26 детей (31,70%) - 3 степень обсемененности, у 14 детей (17,07%) - 4 степень.

В 26,82% высевов (22 ребенка) наблюдался рост *Str.mitis*, при этом обсемененность 4 степени наблюдалась у 14,63% детей (12 детей), 3 степень – у 10,97% (9 пациентов).

По 10,97% в культуре выделялись *Neisseriaspp.* с 3 степенью обсемененности и *Corynebacteriumspp.* - с 4 степенью обсемененности.

Реже всех высевались *Str. pneumoniae*, *Enterococcusfaecium*, *E.coli.*, со 2 степенью обсеменения.

Обсемененность грибковой флорой в виде *Candidaalbicans* была небольшой – 1-2 степени и наблюдалась у 15,85% обследуемых, в основном у мальчиков.

Анаэробная флора в 20,73% культур представлена *Peptostreptococcus**spp.* с 3 – 4 степенью обсеменения, с преобладанием у девочек.

Проведенный анализ микрофлоры зубного налета у детей с нарушениями слуха и речи, находящихся в условиях социальной депривации, показал высокую обсемененность бактериальной и грибковой флорой. Доминирующими микроорганизмами у исследуемой группы детей являются стрептококки, стафилококки, пептострептококки, грибы рода *Candida*. Микроорганизмы в основном встречаются в ассоциациях.

Состояние микробиоценоза полости рта можно рассматривать, как одну из причин формирования стоматологических заболеваний. Что диктует необходимость разработки комплексных подходов к профилактике, лечению и реабилитации стоматологической патологии у этой категории детей.

## ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ РИСКИ ПРИ УПОТРЕБЛЕНИИ ФАСТ-ФУДА

*Л.Р.Тухватуллина*

ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, г. Казань, Россия

К продуктам «быстрой еды» относятся бургеры, картофель фри, гамбургеры, чипсы, хот-доги, пицца, шаурма, то есть то, что можно съесть быстро, на ходу, почти не отвлекаясь от дел. В России почти половину ресторанного трафика занимает общественное питание в режиме сокращенного времени приготовления и уменьшенной продолжительностью употребления, то есть фаст-фуд. Многочисленными исследованиями показаны негативные для здоровья потребителя стороны «быстрого питания», такие как несбалансированность и нерациональность.

Методом анкетирования более 120 человек в возрасте 18-27 лет с применением ГУГЛ-форм были рассмотрены некоторые социально-гигиенические аспекты потребления фаст-фуда. Почти половина опрошенных (41,8%) питаются в точках быстрого питания несколько раз в месяц и одной из главных причин они указали на нехватку времени (57,3 %). Полученные данные созвучны аналогичным исследованиям в других регионах нашей страны [1,2].

Гигиенический аспект фаст-фуда отягощается тем, что специфика употребления продуктов питания в некоторых случаях не предусматривает элементарных процедур мытья рук, пользования столовыми приборами и т.п. Очень часто изготовление и продажа фаст-фуда осуществляются в непосредственной близости к потребителю, практически на улице, и переводит его в категорию «уличной еды». Обеспечение эпидемиологической безопасности пищевых продуктов снижено, что увеличивает риски инфекционных заболеваний.

Изучены отчеты лабораторного контроля Федерального бюджетного учреждения здравоохранения «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)» за объектами общественного питания в г.Казани за 2014-2018 годы. При проведении санитарно-

эпидемиологических исследований, токсикологических, гигиенических и иных видов оценок в целях обеспечения государственного надзора и защиты прав потребителей, социально-гигиенического мониторинга и т.д., предприятия общественного питания, представляющие фаст-фуд и «уличную еду» объединены под кодом 56.10.1 «Деятельность ресторанов и кафе с полным ресторанным обслуживанием, кафетериев, ресторанов быстрого питания и самообслуживания», согласно общероссийского классификатора видов экономической деятельности (ОКВЭД).

Анализ данных отчетов по коду 56.10.1 за 5 лет показал, что количество микробиологических и паразитологических исследований увеличилось более чем в 2 раза, с 3724 проб в 2014г. до 8049 проб в 2018г. За этот же период доля нестандартных проб микробиологических исследований при плановом контроле выросла с 1,67% до 8%; при внеплановом контроле – с 2,48% до 3,19%. За 2017-2018гг в рамках производственного контроля нестандартные микробиологические пробы составили 3,16 % и 3,82%. Самый большой процент нестандартных проб выявляется при исследованиях по жалобам потребителей – 18,75% - 18,91%. Паразитологические исследования нестандартных проб не выявили. К сожалению, существующая система мониторинга не позволяет определить доли нестандартных проб, приходящиеся на интересующие нас предприятия фаст-фуда и «уличной еды» («McDonald's», «KFC», «Burger King», «Тюбетейка», киоски шаурмы и т.п.).

Учитывая то, что условия приготовления и употребления фаст-фуда способствуют микробиологическому и паразитарному загрязнению данной продукции мы рекомендуем оптимизировать санитарный контроль за данными объектами общественного питания с выделением их в соответствующий подкласс по ОКВЭД для предприятий сферы уличной еды и быстрого питания.

#### Список литературы:

1. Дюбокова-Жерносек Т.П. Пищевые предпочтения студентов с позиций риска сердечно-сосудистых заболеваний, связанных с атеросклерозом. // ISSN: 2415-7708 / Электронный научно-практический журнал «Синергия». – 2018. - № 3. С.7-13 <https://elibrary.ru/item.asp?id=36403727>
2. Михайлов А.В. Питание в жизни студента // Научно-практический электронный журнал «Аллея науки». - 2018. - Т. 5. № 5 (21). С. 486-490. <https://elibrary.ru/item.asp?id=35221834&>

## ИЗУЧЕНИЕ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ К КОНСЕРВАТИНЫМ ЭПИТОПАМ СТАФИЛОКОККОВОГО ЭНТЕРОТОКСИНА А (SEA) У БОЛЬНЫХ С АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ.

Ю.А.Тюрин<sup>1,2</sup>, Г.Ш.Исаева<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФБУН Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии,  
Роспотребнадзора, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Казанский ГМУ, Министерства здравоохранения России

Атопический дерматит (АтД) – хроническое воспалительное заболевание кожи, которое развивается в раннем детском возрасте, реже рецидивирует у взрослых и негативно отражается на качестве жизни пациентов [1, 2].

Видовой и количественный состав микрофлоры кожи меняется со временем и зависит от локализации, возраста пациента и стадии процесса (обострение или ремиссия) [3]. В большинстве случаев в норме на коже преобладают грамположительные бактерии. Типичными обитателями кожи являются таксоны *Staphylococcus* (*S. epidermidis*, *S. hominis*), *Micrococcus*, *Corynebacterium* (составляющие до 70 % всей кожной микрофлоры), *Acinetobacter*, *Propionibacterium* [4]. Некоторые виды разрушают выделения сальных желез, образуя липазы, и являются липофильными.

Цель исследования: изучение сенсибилизации к бактериальному энтеротоксину *A* (*SEA*) стафилококковой микрофлоры у больных с атопическим дерматитом на фоне стафилококковой колонизации поражённой кожи.

**Материалы и методы.** Бактериологическими методами изучен бактериоценоз кожи 60 пациентов с АД в возрасте от 1 года до 35 лет. Все пациенты по современной классификации разделены на подгруппы. В серологическом исследовании участвовало 113 пациентов с различными формами и тяжестью АД в возрасте от полугода до 36 лет. Контрольная группа состояла из 110 человек здоровых добровольцев, без аллергической патологии в возрасте от 3 лет до 39 лет. Все обследуемые лица давали письменное информированное добровольное согласие.

Бактериологическое исследование кожи проводилось по росту колоний и их количества на питательных средах (мясопептонный агар с маннитом и индикатором, 5% кровяной агар, среда Эндо, ЖСА, среда Сабуро). Идентификацию выросших колоний осуществляли программно-аппаратным комплексом MALDI Biotyper (ПФУ, с.н.с, к.б.н. Григорьева Т.В.).

Консервативные аминокислотные последовательности *SEA* определяли методом множественного выравнивания (multiple sequence alignment) используя последовательности 11 форм *SEA*. *S. aureus* (аннотированных в базе данных NCBI).

Поиск линейных В-клеточных эпитопов в консервативных участках энтеротоксина *SEA* осуществлён с применением биоинформационного алгоритма при значении *average*: 0.513-0.530. Профиль генов энтеротоксинов исследован в образцах ДНК, выделенной из 128 изолятов *S. aureus* от больных АД и 75 штаммов от бактерионосителей без аллергической патологии.

Определение сенсибилизации к консервативным эпитопам *SEA* определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа. Синтез, очистка (>90%) полученных пептидов осуществлён компанией GenScript USA Inc, (пептиды любезно предоставлены профессором, д.б.н., А. А. Ризвановым, ПФУ, Казань)

Статистический анализ: методы параметрической статистики

Результаты и обсуждение.

В составе микробного сообщества кожи у пациентов с АД выявлены представители отделов: *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Ascomycota*, *Basidiomycota*. В микробном сообществе кожи больных с АД преобладали представители стафилококков: *S. aureus*, *S. epidermidis*. Частота встречаемости составляла  $68.8 \pm 6,7\%$  и  $34.0 \pm 7,6\%$  соответственно. Также высокая частота встречаемости была у *Candida albicans* –  $24.2 \pm 5,5\%$ , *Malassezia globosa* –  $14.0 \pm 7,8\%$ , *Cryptococcus satoi* –  $12.0 \pm 2,2\%$ . В зависимости от возрастной группы пациентов с АД, на маркёрных участках кожи (лицо, верхние конечности) преобладали следующие таксоны:

- у детей до 3-х летнего возраста (младенческая форма заболевания) – *S. aureus* –  $73 \pm 3,0\%$ , *S. epidermidis* –  $12 \pm 1,5\%$ , *S. hominis* –  $6 \pm 0,5\%$ , *Candida albicans* –  $14.2 \pm 1,5\%$ ; в сравнении с здоровыми детьми – *S. aureus* –  $4 \pm 0,5\%$ , *S. epidermidis* –  $16 \pm 1,7\%$ , *S. hominis* –  $76 \pm 3,5\%$ , *Candida albicans* –  $4.2 \pm 5,5\%$ .

- у детей старше 3 лет до 13 лет (детская форма заболевания) – *S. aureus* –  $48\%$ , *S. epidermidis* –  $20,0 \pm 2,5\%$ , *Candida albicans* –  $19,0 \pm 1,5\%$ , *Cryptococcus satoi* –  $10.0 \pm 2,2\%$ ; в сравнении с здоровыми – *S. aureus* –  $2 \pm 0,5\%$ , *S. epidermidis* –  $66 \pm 3,5\%$ , *S. hominis* –  $46 \pm 2,5\%$ , *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* –  $30,0 \pm 1,5\%$ , *Corynebacterium propinquum* –  $32,0 \pm 1,5\%$

- у подростков от 14 лет до 19 лет (подростковая форма заболевания) – *S. aureus* –  $58 \pm 2,5\%$ , *S. epidermidis* –  $6,0 \pm 1,0\%$ , *Candida albicans* –  $23,0 \pm 2,5\%$ , *Malassezia globosa* –  $12,0 \pm 3,5\%$ , *Malassezia caprae* –  $11,5 \pm 2,5\%$ , *Cryptococcus satoi* –  $9.0 \pm 2,2\%$

При анализе профиля генов энтеротоксинов у изолятов *S. aureus*, выделенных с поражённой кожи пациентов с АД, в 19 (14,8%) штаммах выявили ген *sea*, а из 100 изолятов *S. aureus*, выделенных с кожи здоровых, только в 3 (3,0%) изолятах.

При анализе сенсибилизации к *SEA* определены три эпитопа: epitop-1 с 82 по 94 аминокислотных остатка, epitop-2 с 21 по 32 а.о. и epitop-3 с 238 по 253 а.о. к которым определяли специфические анти-IgE. Низкий уровень эпитоп-специфичных IgE характерен для младенческой формы заболевания (дети до 3-х лет), затем он нарастает с возрастом до среднестатистического уровня. К эпитопу-1 *SEA* максимальный уровень IgE формируется у подростков и взрослых лиц с АД, к



эпиопу-2 уровень сенсibilизации достигает максимума у детей в возрасте от 4-13 лет (детская форма) и сохраняется в подростковом периоде и у взрослых. К эпиопу-3 максимальный уровень атител выявляется у детей в возрасте от 4 до 13 лет, затем титр снижается у подростков и возрастает у взрослых больных.

Анализ гомологичности структуры эпитопов SEA к значимым аллергенам, показал, что ерiтор-3 гомологичен структуре алергокомпонентов микроклетей (Der p 24, Der f 24), эпитопы 1 и 2 гомологичны эпитопам алергокомпонентов плесневых грибов (Alta1, Alta5, Ренои энтеротоксинам D, C), а также алергокомпонентам сои (Glym), бытовым алергенам, содержащимся в клещах домашней пыли.

Заклyчение и выводы.

Таким образом, при формировании атопии и развитии атопического дерматита качественный и количественный состав микрофлоры поражённой и непоражённой кожи изменяется. В микробном сообществе кожи больных с АД преобладают представители стафилококков - *S. aureus* и *S. epidermidis*. У больных АД поражённая кожа колонизируется преимущественно энтеротоксигенными штаммами *S. aureus*, что формирует с возрастом сенсibilизацию к энтеротоксинам.

Анализ гомологичности структуры консервативных эпитопов SEA, установил, что эпитопы SEA высоко гомологичны структуре эпитопов алергокомпонентов микроклетей домашней пыли, плесневых грибов, стафилококковым энтеротоксинам D, C, а также алергокомпонентам из сои, что может обуславливать формирование перекрёстной и сочетанной сенсibilизации между бактериальными энтеротоксинами и алергокомпонентами из других источников и способствовать при атопическом дерматите хронизации воспаления в дерме и развитию более тяжёлых форм заболевания.

Литература.

1. David Boothe W., Tarbox J. A., Tarbox M. B. Atopic dermatitis: pathophysiology. Adv Exp Med Biol. 2017; 1027: 21-37. DOI: 10.1007/978-3-319-64804-0\_3.
2. Williamson S, Merritt J, De Benedetto A. Atopic Dermatitis in the Elderly: A review of clinical and pathophysiology hallmarks. Br. J. Dermatol. 2019 Mar 21. DOI: 10.1111/bjd.17896.
3. Репецкая М.Н., Маслов Ю.Н., Шайдуллина Е.В., Бурдина О.М. Микробиоценоз кожи и слизистых при атопическом дерматите у детей. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2014; № 6: 112-116.
4. Аравийская Е. Р., Соколовский Е. В. Микробиом: новая эра в изучении здоровой и патологически измененной кожи. Вестник дерматологии и венерологии. 2016; №3: 102-109.

## ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ ОСОБЕННОСТЬ ТОНЗИЛЛИТОВ ПРИ ИНФЕКЦИОННОМ МОНОНУКЛЕОЗЕ, ВЫЗВАННОМ ВИРУСОМ ЭПШТЕЙНА-БАРР

В.Х.Фазылов<sup>1</sup>, Н.Ф. Дроздова<sup>1</sup>, И.Д.Гарипова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, Кафедра инфекционных болезней, Казань, Россия

<sup>2</sup> ГАУЗ «Республиканская клиническая инфекционная больница им. проф. А.Ф. Агафонова», Казань, Россия

В настоящее время имеется значительный опыт в изучении как острых так и хронических тонзиллитов, однако нельзя сказать что заболеваемость данной патологией снижается [1]. Изучив эпидемиологические исследования последних лет, можно утверждать, что распространенность тонзиллитов в различных возрастных группах колеблется от 5 до 40 % среди взрослых и от 15 до 70% у детей [2]. Острый тонзиллит можно отнести к одному из самых распространенных внебольничных инфекционных заболеваний в мире [3-4]. Если взять общую заболеваемость острым тонзиллитом подавляющее число случаев принадлежит тонзиллитам вирусной этиологии (герпесвирусы, респираторные вирусы, энтеровирусы) и не требуют антибиотикотерапии. Если

рассмотреть тонзиллиты бактериальной этиологии, то до 30% случаев вызываются  $\beta$ -гемолитическим стрептококком группы А (БГСА) [5-7]. Начало антибактериальной терапии при тонзиллитах на сегодняшний день определяет этиологическая расшифровка диагноза. На данный момент практически единственным показанием к началу антибактериальной терапии является наличие стрептококковой (БГСА) природы заболевания.

В России десятилетиями можно наблюдать определенные стереотипы в диагностике тонзиллитов, которые основываются на оценке фарингоскопической картины и являются причиной частых диагностических и тактических ошибок. Наличие налетов на небных миндалинах может указывать в равной степени как на стрептококковую природу тонзиллита так и на тонзиллиты при многих ОРВИ (риновирусе, аденовирусе, энтеровирусе др.), инфекционном мононуклеозе (ИМН), орофарингеальном кандидозе. Однако при отсутствии налетов на небных миндалинах и наличие только выраженных катаральных проявлений, не противоречат тонзиллиту вызванному БГСА. Но к сожалению ни клиническая картина (которая включает в себя наличие налетов на небных миндалинах и высокую лихорадку), ни изменения в анализе крови (появление лейкоцитоза, нейтрофилии, «сдвиг лейкоцитарной формулы влево», повышение уровня С-реактивного белка) не дают достаточной чувствительности и специфичности для проведения дифференциальной диагностики вирусных и бактериальных тонзиллитов. Острое течение инфекционного мононуклеоза всегда сопровождается явлениями тонзиллита. Ангина может быть как катаральной так и лакунарной и даже язвенно-некротической, но нужно помнить, что присоединение вторичной бактериальной флоры в период острой фазы ИМН (стафилококковой, стрептококковой и др.), говорит нам об осложненном течении заболевания [8-9]. На данный момент бактериологическое исследование материала взятого с небных миндалин и задней стенки глотки считают «золотым стандартом» в плане диагностики острого бактериального тонзиллита [3-4].

Целью нашего исследования было изучение общей этиологической структуры тонзиллитов, у пациентов с инфекционным мононуклеозом, вызванным вирусом Эпштейна Барр.

#### Материал и методы

Под наблюдением находилось 125 пациентов в возрасте от 15 до 35 лет ( $21 \pm 3$  года), 85 пациентов с подтвержденным диагнозом «ВЭБ-мононуклеоз». Диагноз лабораторно подтверждался с помощью метода ИФА с использованием тест-систем производства ЗАО «Вектор-Бест» (Россия) с определением иммуноглобулинов класса М к капсидному белку ВЭБ и иммуноглобулинов класса G к раннему антигену ВЭБ, а так же методом ПЦР - ДНК к ВЭБ. Бактериологическая диагностика с выделением и идентификацией культур бактерий-возбудителей стандартным методом, проводилась всем пациентам на 1-2 сутки болезни. У 40 пациентов ВЭБ - инфекция не была выявлена они составили группу сравнения.

#### Результаты и обсуждение

После проведения бактериологического исследования, у 56 (66%) пациентов с подтвержденным «ВЭБ-мононуклеозом», этиологическая структура тонзиллитов была представлена грамположительными кокками. Основным возбудителем выделенным из материала с миндалин был *Staphylococcus aureus* у 38 (68%) пациентов,  $\beta$ -гемолитический стрептококк группы А (БГСА) у 18 (32%), у 5 (6%) - *Kl.pneumonia*, и у 3 (4%) - грибы рода *Candida*. У 21 пациента (24%) возбудитель не был выявлен, скорее всего это связано с поздним обращением в стационар и самостоятельным началом применения антибиотикотерапии и местной обработкой антисептиками. Значимую роль в патогенезе развития тонзиллита при ИМН может играть совокупность большинства условно-патогенных представителей микрофлоры, которые действуют в лимфоидном образовании глотки под действием вируса (вирусно-бактериальная природа). При внедрении вируса Эпштейна-Барр в лимфоидную ткань рото-носоглотки, происходит запуск лимфопролиферативной линии патогенеза, идет резкое снижение защитной роли мукозального иммунитета, тем самым происходит повышение концентрации представителей нормофлоры небных миндалин, что ведет к развивается острого тонзиллита и зачастую к развитием осложнений [10-13].

В группе сравнения ( $n=29; 73\%$ ) основным возбудителем тонзиллита являлся  $\beta$ -гемолитический стрептококк группы А, у 8 (20%) был обнаружен *Staphylococcus aureus*, а у 3 (7%)

одновременно высевался БГСА, *Staphylococcus aureus* и *Kl.pneumonia*. По данным различных авторов, примерно с 4 лет основным возбудителем острого тонзиллита является  $\beta$ -гемолитический стрептококк группа А (БГСА), в дальнейшем он становится одной из ведущих причин острых тонзиллитов и тонзиллофарингитов у подростков и взрослых [14-16].

#### Выводы.

1. У пациентов в период острой фазы ВЭБ-моноклеоза, преобладал тонзиллит вызываемый *Staphylococcus aureus*, тогда как в группе сравнения тонзиллиты были в более половине случаев стрептококковой этиологии.

2. Наличие у пациентов ВЭБ-инфекции сопровождалось изменением этиологической структуры тонзиллитов, а также частым развитием осложнений.

3. Наличие тонзиллита у пациента требует обязательного включения в диагностику бактериологического исследования, так как налеты на небных миндалинах могут быть в равной степени симптомом как бактериальной, так и вирусной инфекции.

4. Выявленные микроорганизмы могут вызвать развитие осложнений при наличии у пациента выраженной иммуносупрессии, поэтому своевременное выявление возбудителя и грамотно подобранная этиотропная и патогенетическая терапия предотвратит развитие серьезных осложнений у пациентов с ВЭБ-моноклеозом.

#### Список литературы

1. Крюков А.И. [и др.] Актуальность проблемы хронического тонзиллита // Вестник оториноларингологии. 2009. №5. С. 4-6.
2. Пальчун В.Т. Оториноларингология: национальное руководство // М.: ГЭОТАР-Медиа. 2009. С. 960.
3. Белов Б.С. Современные подходы к антибактериальной терапии А-стрептококкового тонзиллита // Consilium medicum. Инфекции и антимикробная терапия. 2000. Т. 2, №2. С. 164–168.
4. Shulman S.T., Bisno A.L., Clegg H.W. [et al.] Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Management of Group A Streptococcal Pharyngitis: 2012. Update by the Infectious Diseases Society of America // Clinical Infectious Diseases Advance Access published. 2012.
5. Bisno A.L. Acute pharyngitis: etiology and diagnosis // Pediatrics. 1996. Vol. 97. P. 949–954.
6. Ebell M.H., Smith M.A., Barry H.C. [et al.] The rational clinical examination, Does this patient have strep throat? // JAMA. 2000. Vol. 284. P. 2912–2918.
7. Дарманиян А.С., Бакрадзе М.Д. Проблема острого тонзиллита в детском возрасте // Медицинский совет. 2013. №1. С. 69–72.
8. Бойко Н.В. [и др.] Изменение подходов к лечению хронического тонзиллита в детском возрасте по материалам Ростовской ЛОР клиники // Вестник оториноларингологии. 2012. №5. Приложение. С.226-228.
9. Boccazzi A., Garotta M., Pontari S., Agostoni C.V. Streptococcal tonsillopharyngitis: clinical vs. microbiological diagnosis // Infez Med. 2011 Jun. Vol. 19 (2). P. 100–105.
10. Jenson H.B. Acute complications of Epstein-Barr virus infectious mononucleosis // Curr Opin Pediatr. 2000. V. 12. P. 263-268.
11. Andersson J. An overview of Epstein-Barr virus: from discovery to future directions for treatment and prevention // Herpes. 2000. V. 7, № 3. P. 76-82.
12. Fota-Markowska H. [et al.] Candidosis of the pharyngeal mucosa in patients with infectious mononucleosis // Ann Univ Mariae Curie Sklodowska. 2004. V. 59, № 1. P. 200-203.
13. Белова Е.Г. Клинико-лабораторная характеристика, состояние ротоглотки и факторов местного иммунитета у больных Эпштейна-Барр вирусным инфекционным мононуклеозом // Автореф. дисс. к.м.н. - М., 2000. С. 24
14. Таточенко В. К. Болезни органов дыхания у детей: практическое руководство // Изд. доп. М.: ПедиатрЪ. 2012. 480 с.
15. Ebell M. H., Smith M. A., Barry H. C. [et al.] The rational clinical examination. Does this patient have strep throat? // JAMA. 2000; 284: P. 2912-2918.
16. Boccazzi A., Garotta M., Pontari S., Agostoni C. V. Streptococcal tonsillopharyngitis: clinical vs. microbiological diagnosis // Infez Med. 2011; 19 (2): 100–5.

## АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ ВСТРЕЧАЕМОСТИ *CANDIDA ALBICANS* У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ГЛОТКИ

Е.В.Халдеева<sup>1</sup>, С.А.Лисовская<sup>1,2</sup>, Н.И.Глушко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБУН Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, Казань

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, г. Казань, Россия

Воспалительные заболевания глотки являются одной из наиболее распространенных патологий у детей. В последние годы отмечен рост частоты встречаемости хронических форм этих заболеваний, в том числе, характеризующихся устойчивостью к антибиотикотерапии. Одной из причин возникновения хронических инфекций являются дрожжеподобные грибы рода *Candida*, которые могут попадать в ротовую полость через продукты сырые, не прошедшие термическую обработку, сырую водопроводную воду, а также передаются контактным или воздушно-капельным путем.

Грибы *Candida* spp. по встречаемости у человека оставляют позади все остальные грибы, вместе взятые. Они выявляются на коже и слизистых оболочках более чем у половины всего населения, являются оппортунистической инфекцией, персистируя в случае ослабления иммунной системы организма или нарушения защитной функции слизистых оболочек. Одним из факторов, способствующих развитию кандидоза, является использование антибиотиков, подавляющих рост нормальной бактериальной флоры слизистых оболочек, но не обладающих фунгицидным действием. Клинически симптомы кандидоза могут быть разнообразными, включая в себя пузырьки, трещины, эрозию на слизистой горла; творожистые выделения при отхаркивании; зуд пораженных участков; воспаленные красные миндалины по причине присутствия грибка в полости рта; белый точечный налет в горле, красные точки на слизистой его оболочке; затрудненное глотание, болевые ощущения при эрозийной поверхности. Отсутствие специфических симптомов нередко приводит к неправильной терапии заболевания и его хронизации.

В связи с этим, целью работы являлось изучение микробиоты зева и анализ частоты встречаемости *Candida albicans* у детей с хроническими воспалительными заболеваниями глотки.

**Материалы и методы.** Обследовано 160 детей в возрасте от 1 до 17 лет, с хроническими воспалительными заболеваниями глотки, из них 48,1% девочек (n=77) и 51,9% мальчиков (n=83). Детей в возрасте до трех лет n= 46, с 4 до 7 - n= 69, с 8 до 12 – n=28, старше 12 лет - n= 17 человек. У всех пациентов отмечались не менее трех эпизодов заболевания в течение последнего года.

Всем пациентам проводилось микологическое исследование слизистой зева и носа. Биоматериал у пациентов отбирали натошак, исключив применение лекарственных препаратов не менее чем за 7 дней.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Анализ результатов проведенных исследований показал, что у 86 детей (53,8%) выявлено присутствие дрожжеподобных грибов *Candida* spp. Наиболее часто выявлялся вид *Candida albicans* (84 случая, 52,5%), в том числе - в ассоциациях с *Candida tropicalis* (5 случаев, 3,1%) и *Candida kruzei* (5 случаев, 3,1%). В 2 случаях (1,3%) выявлен вид *Candida tropicalis*. Бактериальная флора представлена *Streptococcus* spp. (90%), *Staphylococcus* spp. (81,7%), палочковой флорой (31,7%).

Частота выявления *Candida* spp. в различных возрастных группах отличалась. Так, если у детей в возрасте до 3 лет грибы высевались в 39,1% случаев, то в старших возрастных группах этот показатель был значительно выше: у детей 4-7 лет – 58%, 8-12 лет – 60,7%. В группе детей 12-17 лет грибы высевались в 52,9% случаев. При этом, среди пациентов, у которых были выявлены грибы, уровень обсемененности *Candida albicans* не менее 10<sup>3</sup>КОЕ отмечался у 72,2% детей в возрасте до 3 лет, 47,5% детей 4-7 лет, 82,4% детей 8-12 лет и 77,8% детей старше 12 лет. Следует отметить, что у детей в возрасте 4-7 лет, несмотря на достаточно высокую частоту выявления *Candida albicans*, в 52,5% случаев количество гриба не превышало 10<sup>2</sup>КОЕ, что обычно

трактуются как кандиданосительство. При этом у 44,9% детей этой группы отмечали повышенную обсемененность бактериями (более  $10^4$  КОЕ/тампон), что значительно выше, чем в остальных возрастных группах (17,4% - до 3 лет, 21,4% - от 8 до 12 лет, 35,3% - старше 12 лет). Это свидетельствует о высокой вероятности бактериально-грибковой микст-инфекции, которая может осложнять течение заболевания и обуславливает неэффективность терапии.

**Выводы.** Показана высокая частота колонизации слизистой зева грибами рода *Candida*, в т.ч. *Candida albicans*, у детей с хроническими заболеваниями глотки. Отмечено, что у детей 4-7 лет высока вероятность бактериально-грибковых микст-инфекций, что требует учета при назначении терапии. Показано, что у детей до трех лет и старше 8 уровень обсемененности слизистой зева *Candida albicans* значительно выше, чем у детей 4-7 лет.

Таким образом, хронические воспалительные заболевания глотки у детей могут быть обусловлены как бактериальной, так и грибковой микробиотой, а также их совместным присутствием, что требует проведения углубленной дифференциальной диагностики для учета возможных ассоциаций и назначения рациональной терапии.

## ВЫЯВЛЕНИЕ РОЛИ МЕТИЦИЛЛИНРЕЗИСТЕНТНЫХ *S. AUREUS* В РАЗВИТИИ НОЗОКОМИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ

*О.Е.Хохлова<sup>1</sup>, Д.Н.Акушева<sup>1</sup>, Я.Ивао<sup>4</sup>, В.В.Камшилова<sup>3</sup>, О.В.Перьянова<sup>1,2</sup>, А.И.Мотова<sup>3</sup>,  
Ю.В.Котловский<sup>1</sup>, О.Я.Оседко<sup>1</sup>, Т. Ямамото<sup>4</sup>*

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф.Войно-Ясенецкого" Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Красноярск.

<sup>2</sup>Российско-Японский центр микробиологии, метагеномики и инфекционных заболеваний, г. Красноярск.

<sup>3</sup>Краевое государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Красноярская межрайонная клиническая больница скорой медицинской помощи им. Н.С.Карповича», г. Красноярск.

<sup>4</sup>Международный медицинский образовательно-исследовательский центр (IMERC) г. Ниигата, Япония.

Одним из наиболее серьезных осложнений у госпитализированных тяжелых пациентов, значительно повышающих риск летального исхода, увеличивающих длительность и стоимость стационарного лечения, является нозокомиальная пневмония. Нозокомиальная пневмония – заболевание, характеризующееся появлением на рентгенограмме свежих очагово-инфильтративных изменений в легких спустя 48 часов и более после госпитализации в сочетании с клиническими данными, подтверждающими ее инфекционную природу при исключении инфекций, которые находились в инкубационном периоде на момент поступления больного в стационар [1, 2]. **Целью** данной работы явилось изучение роли метициллинрезистентных *S. aureus* в развитии госпитальной пневмонии.

**Материалы и методы.** За период 2012-2016 гг. в г. Красноярске обследовано 272 больных нозокомиальной пневмонией, госпитализированных в КГБУЗ «КМКБСМП им. Н.С. Карповича». Материалы для исследования: бронхоальвеолярный лаваж или мокрота. В случае взятия мокроты, для оценки качества взятия материала, микроскопировали. Засевали на колумбийский агар с добавлением 5% крови (Хай-Медиа, Индия), желточно-солевой агар, среды Эндо и Сабуро (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск). Идентификацию исследуемых культур проводили на основании морфотинкториальных, культуральных и биохимических свойств, используя помимо рутинных методов тест-системы Remel (США), Bio Meriux (Франция). Чувствительность микроорганизмов к антибиотикам определяли диско-диффузионным методом на агаре Мюллера-Хинтона с использованием дисков OXOID (Великобритания); чувствительность стафилококков к оксациллину (Sigma-Aldrich, США), цефокситину OXOID (Великобритания) проводили методом

скрининга, ПЦР; чувствительность стафилококков к другим антимикробным препаратам проводили методом серийных разведений в соответствии с международными рекомендациями CLSI, EUCAST. Продукцию бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) у энтеробактерий определяли фенотипически: методом «двойных дисков» [3]. Продукцию металло-β-лактаз (МБЛ) проводили методом инактивации карбапенемов (CIM) [4]. Для внутрилабораторного контроля определения антибиотикочувствительности и метициллинорезистентности использовали референс-штаммы из коллекции ATCC (*S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 и *P. aeruginosa* ATCC 27853). Типирование MRSA – MLST, *spa* - секвенирование; *agri* SCCmec - ПЦР, М-ПЦР; коагулазотипирование. Определяли 49 генов вирулентности - ПЦР. МПК к антимикробным препаратам - метод серийных разведений в среде Мюллера-Хинтона и Е-тест. Качественные признаки представлялись в виде долей (%) и абсолютных чисел. В сравнительном анализе использовался двусторонний критерий Фишера. Уровень значимости  $p < 0,05$ .

**Результаты.** При исследовании бронхоальвеолярного лаважа или мокроты от пациентов с госпитальной пневмонией рост микроорганизмов был получен в 86,0 % случаев (у 234 обследованных). Выделено 482 штамма. При этом, микроорганизмы были выделены преимущественно в составе ассоциаций (в 76,5 % случаев). В составе микрофлоры воздухоносных путей преобладали грамотрицательные микроорганизмы, выделенные в 71,6 % случаев. Среди представителей семейства *Enterobacteriaceae* (38,1 %) доминировали *K.pneumonia* (24,8 %), и в 6,2 % случаев выделены *E. coli*. На долю неферментирующих грамотрицательных бактерий приходилось 33,5 % случаев, при этом среди них доминировали *A.baumannii* (19,2 %). Чуть реже, в 14,3 % случаев, были выделены *P. aeruginosa*. Грамположительные микроорганизмы выделены в 12,2 % случаев и представлены *S. aureus* (59 из 482 штаммов). Дрожжеподобные грибы р. *Candida* выделены в 16,2 % случаев. Наиболее частыми ассоциантами являлись *K.pneumoniae* и *Acinetobacterspp.* (19,3 %), *K.pneumoniae* и *Candidaalbicans* (16,7 %), *K.pneumoniae* и *P. aeruginosa* (13,5 %); *A. baumannii* и *E. coli* (11,9 %), MSSA и *K.pneumoniae* (8,6 %); MRSA и *A. baumannii* (4,5 %).

При исследовании чувствительности к антимикробным препаратам изолятов микроорганизмов сем. *Enterobacteriaceae*, выделенных из бронхоальвеолярного лаважа или мокроты от пациентов с госпитальной пневмонией, установили резистентность к цефтазидиму в 70,9 % случаев, к ампициллину/сульбактаму в 68,7 % случаев, к ципрофлоксацину - 81,3 %, амикацину – 35,7 %. Выявлена чувствительность цефоперазону/сульбактаму и карбапенемам в 97,8 % и 97,2 % случаев соответственно. При исследовании чувствительности к антимикробным препаратам НГОВ, установили резистентность изолятов *Acinetobacterspp.* и *Pseudomonasspp.* к амикацину в 75,5 % случаев, к ципрофлоксацину в 83,3 % случаев, к карбапенемам в 64,7 % случаев. Установлена чувствительность к пиперациллин/тазобактаму среди штаммов *Pseudomonasspp.* в 86,5% случаев. При оценке полученных данных антибиотикорезистентности выделенные изоляты *P. aeruginosa* и *A. baumannii* являлись полирезистентными. Резистентность к карбапенемам штаммов *P. aeruginosa* и *A. baumannii* обусловлена продукцией МБЛ, доля которых на 3-5-е сутки составила 22,1 %. Доля MRSA среди выделенных *S. aureus* составила 40,7 % (24 из 59 штаммов).

Проведено генотипирование штаммов MRSA, выделенные штаммы оказались PVL-негативными. Выявлено наличие двух клонов MRSA: 75% штаммов MRSA генотипа ST239/*spa*3(t037)/*agr*1/SCCmecIII.1.1.2(IIIA)/CoaIV, имели гены *lukED*, гены, кодирующие гемолизины, *tst*, гены, кодирующие суперантигены (*sek* and *seq*) и гены, кодирующие адгезины, в т.ч. коллаген-адгезин (*cna*); 25% штаммов генотипа ST8/*spa*1(t008)/*agr*1/SCCmecIV.3.1.1/CoaIII, имели лейкоцидин *lukED*, гемолизины, энтеротоксин SEA (*sea*), адгезины (за исключением *cna*, *bbp*). Штаммы MRSA ST239 устойчивостью к аминогликозидам, макролидам, линкозамидам, фторхинолонам, рифампицину, хлорамфениколу, сульфаметоксазолу; имели высокий уровень МПК к оксациллину и имипенему. Штаммы MRSA ST8 характеризовались устойчивостью к фторхинолонам, хлорамфениколу. Все выделенные штаммы MRSA сохраняли чувствительность к ванкомицину (МПК, 0,5 мкг / мл), тейкопланину, линезолиду, мупироцину, триметоприму, фузидиевой кислоте.

**Выводы.** Установлено, что в развитии нозокомиальной пневмонии основную роль играют грамотрицательные микроорганизмы, выделенные в 71,6% случаев. Доля *S. aureus* в микрофлоре

составила 12,2%, доля MRSA составила 40,7%. Доминирующим генетическим вариантом MRSA, вызывающим нозокомиальную пневмонию является мультirezистентный ST239/spat037/SCCmecIII.1.1.2.

#### **Литература.**

1. Жданюк, А.С. Нозокомиальная пневмония у травматологических больных: результаты проспективного наблюдательного исследования / А. С. Жданюк, О. У. Стецюк, О. В. Сивая, И. В. Гудков, О. И. Кречикова // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. - 2010. - Т. 12, № 2. - Р. 106-116.
2. Чучалин, А.Г. Нозокомиальная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике / А. Г. Чучалин, А. И. Синапольников, Л. С. Страчунский, Р. С. Козлов, В. А. Руднов, С. В. Яковлев, О. У. Стецюк, Г. К. Решедько // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. - 2005. - № 7. - С. 4-31
3. Drieux L., Brossier F., Sougakoff W., et al. Phenotypic detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase production in Enterobacteriaceae: review and bench guide. Clin. Microbiol. Infect., 2008, Vol. 14, pp. 90-103.
4. Van der Zwaluw K., de Haan A., Pluister G.N., Bootsma H.J., de Neeling A.J., Schouls L.M. The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods. PLoS One., 2015, Vol. 10, no 3, pp. 1-12.

### **ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЯМБЛИОЗА У ДЕТЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ С 2007 ПО 2018 ГОДЫ**

*С. Ю.Шуманская<sup>1</sup>, А. М.Дроница<sup>1</sup>, Е. Г.Фомина<sup>1</sup>, Е. Е.Григорьева<sup>1</sup>,  
Т. С.Гузовская<sup>2</sup>, О.А.Семижон<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии»,

<sup>2</sup>УО «Белорусский государственный медицинский университет»,

<sup>3</sup>ГУ «Минский городской центр гигиены и эпидемиологии»,  
г. Минск

Паразитарные заболевания являются одной из актуальнейших проблем современной медицины, что обусловлено их повсеместным распространением, ощутимым социальным и экономическим ущербами. На сегодняшний день на фоне глобальной экономической нестабильности, ухудшения экологической обстановки, возникновения проблемы недостаточного и несбалансированного питания, нестабильной психо-эмоциональной обстановки, массового распространения хронических заболеваний, а также широкого и бесконтрольного применения различных лекарственных средств все чаще происходят нарушения процессов адаптации и у многих инвазивных заболеваний исчезают характерные клинические проявления, на основании которых можно было бы осуществить дифференциальную диагностику. Особую опасность протозойные инфекции представляют для детского населения.

Лямблиоз – самое частое из заболеваний, вызываемых простейшими в странах с умеренным климатом, что обусловлено в первую очередь их способностью к образованию цист и длительному сохранению во внешней среде. Согласно международной классификации болезней 10-го пересмотра данное заболевание принято шифровать под кодом A07.2 Жиардиаз [лямблиоз], однако в странах Восточной Европы принято употреблять термин Лямблиоз. По данным ВОЗ (2006), ежегодно в мире лямблиозом заражается 200 млн. человек, а распространённость в детской популяции составляет 355 случаев на 100 тыс. детского населения, [2, 4, 5]. Заболеваемость протозоозами ежегодно регистрируется в Республике Беларусь, на долю жиардиаза приходится более 90% случаев, что составляет 800 – 900 случаев в год. Низкая инвазивная доза (8-10 цист), большое количество возможных клинических проявлений заболевания, а также тяжесть течения и возникновение осложнений, наличие стертых форм, устойчивость и распространенность

возбудителей в окружающей среде и множественность путей передачи (водный, пищевой и контактно-бытовой) [1, 4] может свидетельствовать о более широком распространении данных инвазий на территории Республики и о необходимости более детального изучения эпидемического процесса протозоозов.

С учетом вышеизложенного для обоснования медикаментозного лечения протозоозных инфекций, а также оценки ее эффективности, необходимо проведение лабораторной диагностики. Среди неспецифических методов диагностики можно отметить клинический анализ крови, по результатам которого можно определить эозинофилию [4], что может свидетельствовать об инвазии, но не дает информации об этиологическом агенте. В большинстве случаев основным специфическим методом обнаружения возбудителей протозоозов продолжает оставаться копроцистоскопический метод, основанный на специальной обработке материала с последующей микроскопией. Данный метод является достаточно трудоемким и длительным, характеризуется низкой чувствительностью и специфичностью, а также не учитывает существование так называемого «немого» периода, когда прекращается выделение цист в течение 2 – 7 – 14 дней [4] и воздействие «человеческого фактора». Также при копроскопии сложность представляет идентификация атипичных цист, в том числе непатогенных простейших. Широкое применение получила методика иммуноферментного анализа, позволяющая определить уровни антител к возбудителям, однако данный метод зависит от особенностей иммунной системы хозяина, интенсивности инвазии, стадии заболевания и других факторов. Ранние антитела (IgM) появляются лишь на 10 – 14 дни заболевания, кроме этого, существует проблема перекрестных реакций антигенов с другими паразитарными заболеваниями и соматическими антигенами, которые дают ложноположительные результаты [4]. Наиболее эффективным методом в настоящее время считается полимеразная цепная реакция, позволяющая обнаружить нуклеиновые кислоты возбудителей в биоматериале. Этот метод является высокочувствительным и обладает необходимой специфичностью. В настоящее время метод широко используется во всех развитых странах. В Беларуси ПЦР используется для выявления бактериальных и вирусных инфекционных агентов, но не применяется в отношении паразитов. ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии» разработана тест-система для ПЦР диагностики в режиме реального времени для детекции наиболее распространенных протозоозов, основанной на обнаружении фрагментов генома *Giardialamblia*, *Cryptosporidiumparvum*, *Entamoebahistolytica* в биологических образцах (образцы фекалий). При этом конструктивные особенности набора, его т.н. мультиплексность, позволяет осуществлять выявление всех трех возбудителей в пробе одновременно и дифференцированно. Разрабатываемый набор по основным технико-экономическим параметрам: перечню выявляемых возбудителей, чувствительности (1-5 копий ДНК на реакцию), специфичности (100%), экономичности (мультиплексный) и потребительским свойствам (включает полный комплект реагентов для исследования) наиболее адекватен для использования в нашей стране, не уступает зарубежным аналогам и обеспечит импортозамещение.

Задачами исследования являлась характеристика эпидемического процесса лямблиоза в Республике Беларусь и областях страны в период с 2007 по 2018 гг., установление возрастной структуры заболевших лиц, а также пораженности в группах.

В работе использованы данные официальной регистрации лямблиоза с 2007 по 2018 годы (уч.ф.01 - годовая, ф.060-у, ф. 357-у). Данные о численном составе возрастных групп населения. Многолетнюю тенденцию определяли методом наименьших квадратов и оценивали по среднему темпу прироста (Тпр). Значимость возрастных групп в распространенности оценивали по средним многолетним экстенсивным, интенсивным показателям и относительному риску [3]. Подлежащие обязательной регистрации случаи подтверждались копроцистоскопическим методом.

В период с 2007 по 2018 годы многолетняя динамика заболеваемости в Республике Беларусь колебалась от 6,02 на 100 000 населения в 2017 году до 20,62 на 100 000 в 2007 году и характеризовалась выраженной тенденцией к снижению заболеваемости (Тпр= - 8,59%). Согласно данным официальной статистики в Российской Федерации с 2006 по 2013 года заболеваемость лямблиозом колебалась с 84,1 до 45,1 случаев на 100 000 населения.

При анализе многолетней динамики заболеваемости установлено, что на протяжении 2007 – 2018 гг. наименьшие уровни регистрировались в Минской области (показатель заболеваемости в



многолетней динамики колебался от 1,4 до 4,9 случаев на 100 000 населения, Тпр= - 6,29%), а наибольший в Брестской области (от 5,05 до 57,96 случаев на 100 000 населения, Тпр= - 10,37%). Показатели заболеваемости в Витебской области колебались от 1,48 до 28,33 случаев на 100 000 населения (Тпр= 9,13%), в Гомельской – от 3,96 до 21,86 случаев на 100 000 (Тпр= - 14,75%), в Гродненской – от 15,47 до 32,95 случаев на 100 000 (Тпр= - 6,17%), в Могилевской – от 1,79 до 19,0 случаев на 100 000 (Тпр= 9,13%), в городе Минске – от 2,82 до 12,08 случаев на 100 000 населения (Тпр= - 9,28%). Следует обратить внимание, что не смотря на то, что по большинству областей наблюдается выраженная тенденция к снижению заболеваемости в Могилевской области произошла активизация эпидемического процесса с тенденцией к росту.

За исследуемый период в Беларуси по отношению к параболе первого порядка выявлен 1 полный период продолжительностью 2,5 года. При анализе по областям наибольший полный период продолжительностью 7,5 лет выявлен в Гомельской области, а наименьший продолжительностью в 2 года – в Могилевской области. Следует отметить, что в Могилевской области за исследуемый период было выявлено 3 полных периода продолжительностью 3, 2 и 4 года соответственно. В Брестской области продолжительность периода составила 2,9 лет, в Витебской области в 3,2 года, в Гродненской и Минской по 4 года, в г. Минске – 6,2 года и 7,2 года в Витебской области.

За 2018 год наибольший вклад в структуру заболевших вносили дети, на их долю приходилось 78,43% (дети от 0 до 2 лет – 7,39%, от 3 до 6 лет – 26,85%, от 7 до 10 лет – 23,98%, от 10 до 18 лет – 20,21%) от общего количества случаев лямблиоза в Республике Беларусь, взрослые составили 21,57% случаев.

Согласно Приказу Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 15.12.2010 №1334 основным методом диагностики и подтверждения диагноза «Лямблиоз» является копроцистоскопический метод, который имеет ряд особенностей описанных выше. При анализе пораженности населения Республики Беларусь установлено, что данный показатель на протяжении 2008 – 2015 гг. колебалась от 0,17% до 0,44%. Пораженность в возрастных группах была различной: от 0 до 2 лет – от 0,1% до 0,24%; от 3 до 6 лет – от 0,26% до 0,99%; от 7 до 10 лет – от 0,4% до 0,91%; от 0 до 17 лет – от 0,3% до 0,71%; в группе старше 17 лет – от 0,07% до 0,19%.

Таким образом, все вышеизложенное свидетельствует о необходимости более детального определения масштабов распространённости протозоозов на территории Республики Беларусь, особенно среди детской популяции. А также определяет необходимость применения современных методов исследования для диагностики инвазий для раннего выявления и назначения обоснованного лечения для снижения социального и экономического бремени заболевания.

### **Литература**

1. Бельмер, С.В. Лямблиоз у детей: принципы базисной терапии (на основании Рабочего протокола диагностики и лечения лямблиоза у детей 2013 г.) / С.В. Бельмер, В.П. Новикова// Педиатрия. – 2013. – № 24. – С. 1201 – 1205.
2. Бобырева, Н.С. Анализ данных лабораторного обследования на лямблиоз у различных групп населения Ненецкого автономного округа / Н.С. Бобырева, Г.Н. Дегтева // Инфекции и иммунитет. – 2015. – № 3. – С. 279 – 284.
3. Лапач, С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич – Киев: Морион, 2001. – 408 с.
4. Приворотский, В.Ф. Лямблиоз у детей: современное состояние проблемы / В.Ф. Приворотский, Н.Е. Луппова// Педиатрия. – 2013. – том IV № 3. – С. 101 – 110.
5. Hanevik, K. Human cellular immune response against *Giardia lamblia* 5 years after acute giardiasis / K. Hanevik, E. Kristoffersen, S. Svard, O. Bruserud, E. Ringqvist, S. Sørnes, N. Langeland / J. Infect. Dis. – 2011. – vol. 204, no. 11, pp. – P. 1779–1786.

# **ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКИХ МЕРОПРИЯТИЙ В СЕЗОН ГРИППА И ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ**

*Л.Р.Юзлибаева, М.А.Патяшина, Л.Г.Авдонина*

Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и  
благополучия человека  
по Республике Татарстан (Татарстан)

В структуре инфекционной патологии острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) и грипп занимают первое место по частоте и количеству случаев. В мире ежегодно заболевает до 500 млн. человек, в России регистрируют от 27,3 до 41,2 млн. заболевших гриппом и другими ОРВИ.

В Республике Татарстан количество зарегистрированных случаев гриппа и ОРВИ ежегодно достигает до 700 тысяч человек, составляя до 86% от суммарной инфекционной заболеваемости. В суммарной заболеваемости гриппом и ОРВИ доля заболеваемости гриппом остается незначительной и в среднем составляет 0,1-0,2%. Более того, следует учитывать и факт неполной регистрации заболеваемости ОРВИ, в первую очередь по причине необращения за медицинской помощью. Ежегодно 80% случаев заболевания регистрируются в эпидемический сезон, в этот период ОРВИ и грипп поражают более 13% населения республики. До 70% из числа заболевших гриппом и ОРВИ в эпидсезон приходится на детское население. Экономический ущерб от заболеваемости ОРВИ и гриппом в республике составляет в среднем более 80% совокупного ущерба от инфекционных заболеваний. При этом фактический экономический ущерб от заболеваемости ОРВИ является весьма значительным в суммарном экономическом ущербе от гриппа и ОРВИ (более 99%).

Проведенный анализ 5 эпидемических сезонов гриппа и ОРВИ показал наиболее высокий уровень заболеваемости в эпидсезоны 2017-2018 гг. и 2018-2019 гг. (1405,4 и 1424,9 на 100 тыс. населения соответственно), за эти периоды в среднем переболело 14,2% населения республики. Усредненная интенсивность эпидсезона составила 4,2 недели, при этом в последний эпидсезон продолжительность эпидподъема составила 6 недель. Удельный вес положительных находок обследованных больных на наличие вирусов гриппа за 5 эпидсезонов в среднем составил 45,1%, наиболее высокий уровень выявленных вирусов гриппа приходится на эпидсезон 2018-2019 гг. (54,4%).

При этом ежегодно увеличивается охват вакцинацией населения против сезонного гриппа и в среднем за последние 5 сезонов составляет 35,5%, в эпидсезоны 2017-2018 гг. и 2018-2019 гг. 41,5% и 48,2% соответственно. Более того, нормативный уровень охвата вакцинацией был достигнут во всех муниципальных образованиях и во всех группах высокого риска заражения.

Учитывая, что респираторные заболевания вызываются более 200 разновидностями возбудителей, кроме вирусов гриппа, является наиболее актуальным принятие наиболее эффективных профилактических и противоэпидемических мероприятий, в частности, в организованных детских коллективах.

В соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами СП 3.1.2.3117-13 «Профилактика гриппа и других острых респираторных вирусных инфекций» предусмотрены дополнительные санитарно-противоэпидемические (профилактические) мероприятия по предупреждению распространения гриппа и ОРВИ, в том числе введение ограничительных мероприятий и принятие решения о приостановлении учебного процесса в детских образовательных организациях (досрочном роспуске школьников на каникулы или их продлении) в случае отсутствия по причине гриппа и ОРВИ 20% и более детей.

В эпидсезоны 2014-2015 гг. и 2015-2016 гг. были полностью приостановлены занятия в 72 детских образовательных организациях, что составило 85,7% полностью приостановленных занятий в 5 последние эпидсезонов. При этом продолжительность эпидемического подъема с превышением эпидемических порогов заболеваемости гриппом и ОРВИ за первые 2 проанализированных эпидсезона оказалась незначительной и длилась 2 и 3 недели соответственно,

в эпидсезон 2018-2019 гг. эпидподъем заболеваемости наблюдался в течение 6 недель. За последние 5 эпидсезонов частично было приостановлено в среднем 47 детских учреждений, при этом их количество в наблюдаемые годы существенно не отличалось: в эпидсезон 2014-2015 гг. частично приостановлено 192 классов/групп в 40 учреждениях, в 2018-2019 гг. – 197 в 52.

Таким образом, наиболее низкий уровень заболеваемости гриппом и ОРВИ с наименьшим эпидемическим подъемом заболеваемости гриппом и ОРВИ был отмечен в эпидсезоны, когда наиболее активно применялись ограничительные меры с полным приостановлением занятий в детских образовательных организациях.

Исходя из проведенного анализа эффективности противоэпидемических мероприятий в эпидсезоны гриппа и ОРВИ наиболее действенными мерами в снижении продолжительности эпидемического подъема заболеваемости гриппом и ОРВИ наряду с ежегодным широким охватом вакцинацией против гриппа является своевременное инициирование решений по полному по приостановлению занятий в детских образовательных организациях при превышении эпидемического порога заболеваемости гриппом и ОРВИ на 20%.

## АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ЭНДОФИТНЫХ ГРИБОВ ГАРМАЛЫ И САКСАУЛА

У.К.Юсупов, М.Л.Шухратова, Л.И.Абдульмянова

НИИ Микробиологии АН РУЗ, г. Ташкент, Узбекистан

В настоящее время поиск новых соединений, обладающих высокой антибактериальной активностью, обусловлен возрастающей устойчивостью различных патогенных микроорганизмов к существующим антибиотикам. Источниками таких новых соединений несомненно могут служить эндофитные грибы, бессимптомно обитающие в межклеточном пространстве здоровых тканей растений (4). Значительное число работ связано с исследованием биологической активности вторичных метаболитов эндофитных грибов, выделенных из различных лекарственных растений. (1, 3, 5)

Узбекистан обладает богатейшими запасами лекарственных растений, в том числе, эндемичных, веками, использовавшимися в традиционной медицине, что в сочетании с резко континентальным климатом республики предполагает не только широкое разнообразие эндофитных грибов, но и их уникальность (6).

В этой связи, целью данной работы явилось изучение антибактериальной активности экстрактов эндофитных грибов, предварительно отнесенных к родам *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium* и выделенных из различных органов таких лекарственных растений как *Peganum harmala* (Гармала обыкновенная) и *Haloxylon persicum* (Саксаул белый). Известно, что эти растения использовались как антисептические средства, а также при лечении гипертонии, сердечно-сосудистых и других заболеваниях (2, 7).

Антибактериальную активность экстрактов эндофитных грибов определяли луночно-диффузионным методом с замером зон подавления роста 4 тест-культур: *Escherichiacoli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* и *Pseudomonas aeruginosa*.

В результате исследований установлено, что экстракты эндофитных грибов, выделенных из Гармалы обыкновенной, обладают более высокой антибактериальной активностью, по сравнению с экстрактами эндофитов, выделенных из Саксаула белого, как к Грам (+): *Staphylococcus aureus* и *Bacillus subtilis*, так и к Грам (-): *Pseudomonas aeruginosa* штаммам тест – культур. К *Escherichiacoli* активность ни у одного эндофита не обнаружена.

При этом экстракты эндофитов 124 L - *Mucor sp.*, 125 L - *Acremonium sp.* и 127 L - *Alternaria sp.*, выделенные из листьев Гармалы обыкновенной проявили большую активность в сравнении с эндофитами, выделенными из стеблей. Значительная зона подавления роста одновременно трех тест-культур наблюдалась у эндофита 127 L - *Alternaria sp.* и составила 33-35мм.

Полученные данные говорят о перспективности использования эндофитного гриба *127 L - Alternaria sp.* в качестве нового источника антибактериальных веществ.

Список литературы:

1. Bhagat J., Kaur A., Sharma M., Saxena A.K., Chadha B.S. Molecular and functional characterization of endophytic fungi from traditional medicinal plants. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2012, Mar; 28(3):963-71.
2. Chevallier A. *The Encyclopedia of Medicinal Plants*. Dorling Kindersley, London, 1996.
3. Gunatilaka L. Natural products from plant-associated microorganisms: Distribution, structural diversity, bioactivity, and implications of their occurrence. *J. Nat. Prod.* 2006, 69: 509–526.
4. Hazalin N.A., Ramasamy K., Lim S.M., Wahab I.A., Cole A.Lj, Majeed A.A.: Cytotoxic and antibacterial activities of endophytic fungi isolated from plants at the National Park, Pahang, Malaysia. *BMC Complementary and alternative medicine*. 2009, 9:46.
5. Tan R.X., Zou W.X. Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Nat. Prod. Rep.* 2001, 18: 448–459.
6. Zubek S., Nobis M., Blaszkowski J., Mleczko P., Nowak A. Fungal root endophyte associations of plants endemic to the Pamir Alay Mountains of Central Asia. *Symbiosis*, 2011, 54:139-149.
- Eddouks M., Maghrani M., Lemhadri A., Ouahidi M.L., Jouad H. *J Ethnopharmacol.* 2002 Oct; 82(2-3):97-103.
7. Prashanth D., John S. Antibacterial activity of *Peganum harmala*. *Fitoterapia*. 1999;70:438–9.