

EDITORIAL BOARD

Chief Editor —

N.P. Yelinov — Ph.D., prof. (Russia)

Deputies Chief Editor —

N.V. Vasilyeva — Ph.D., prof. (Russia)

N.N.Klimko — M.D., prof. (Russia)

Responsible secretary —

T.S. Bogomolova — Ph.D. (Russia)

SCIENTIFIC EDITORIAL BOARD

V.B. Antonov — M.D., prof. (Russia), R.A. Araviyskiy — M.D., prof. (Russia), N.A. Belyakov — M.D., academician of RAMS, prof. (Russia), J. Bennett — M.D. (USA), S.A. Burova — M.D., prof. (Russia), V.L. Bykov — M.D., prof. (Russia), B. Dupont — M.D. (France), O.G. Hurzilava — M.D. (Russia), V.I. Golubev — Ph.D. (Russia), K.P. Kashkin — M.D., academician of RAMS, prof. (Russia), Z.K. Kolb — M.D., (Russia), V.G. Kubas' — M.D., prof. (Russia), V.M. Leschenko — M.D., prof. (Russia), A.V. Lipnizky — M.D., prof. (Russia), V.I. Mazurov — M.D., corr. memb. of RAMS, prof. (Russia), Iu.A. Medvedev — M.D., prof. (Russia), I. Polachek — M.D. (Israel), A.G. Rakhmanova — M.D., prof. (Russia), K.I. Raznatovsky — M.D., prof. (Russia), F.P. Romanyuk — M.D., prof. (Russia), A.V. Samzov — M.D., prof. (Russia), A.P. Scherbo — M.D., corr. memb. of RAMS, prof. (Russia), N.V. Shabashova — M.D., prof. (Russia), A.V. Sobolev — M.D., prof. (Russia), F. StaiB — M.D. (Germany), H.J. Tietz — M.D. (Germany), T.N. Trofimova — M.D., prof. (Russia), M.A. Viviani — M.D. (Italy), V.A. Zinzerling — M.D., prof. (Russia)

PROBLEMS IN MEDICAL MYCOLOGY

Vol. 13, № 4, 2011

North-Western State Medical University
named after I.I. Mechnikov
Kashkin Research Institute
of Medical Mycology (KRI MM)

ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 13, № 4, 2011

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (СЗГМУ)
Научно-исследовательский институт
медицинской микологии им. П.Н.Кашкина
(НИИ ММ)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор —

Н.П. Елинов — д.б.н., профессор (Россия)

Заместители главного редактора:

Н.В. Васильева — д.б.н., профессор (Россия),

Н.Н. Климко — д.м.н., профессор (Россия)

Ответственный секретарь —

Т.С. Богомолова — к.б.н. (Россия)

НАУЧНО-РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

В.Б. Антонов — д.м.н., профессор (Россия),
Р.А. Аравийский — д.м.н., профессор (Россия),
Н.А. Беляков — д.м.н., акад. РАМН, профессор
(Россия), Дж. Беннетт — доктор медицины (США),
С.А. Бурова — д.м.н., профессор (Россия), В.Л. Быков —
д.м.н., профессор (Россия), М.А. Вивиани — доктор
медицины (Италия), В.И. Голубев — д.б.н., вед.н.с.
(Россия), Б. Дюпон — доктор медицины (Франция),
К.П. Кашкин — д.м.н., академик РАМН, профессор
(Россия), З.К. Колб — к.м.н., (Россия), В.Г. Кубась —
д.м.н., профессор (Россия), В.М. Лещенко — д.м.н.,
профессор (Россия), А.В. Липницкий — д.м.н.,
профессор (Россия), В.И. Мазуров — д.м.н., чл.-корр.
РАМН, профессор (Россия), Ю.А. Медведев —
д.м.н., профессор (Россия), И. Полачек — доктор
медицины (Израиль), К.И. Разнатовский — д.м.н.,
профессор (Россия), А.Г. Рахманова — д.м.н.,
профессор (Россия), Ф.П. Романюк — д.м.н., профессор
(Россия), А.В. Самцов — д.м.н., профессор (Россия),
А.В. Соболев — д.м.н., профессор (Россия), Х.Й. Титц —
доктор медицины (Германия), Т.Н. Трофимова —
д.м.н., профессор (Россия), О.Г. Хурцилава — д.м.н.,
(Россия), В.А. Цинзерлинг — д.м.н., профессор (Россия),
Н.В. Шабашова — д.м.н., профессор (Россия), Ф. Штайб —
доктор медицины (Германия), А.П. Щербо — д.м.н.,
чл.корр. РАМН, профессор (Россия)

Проблематика журнала: Фундаментальные и прикладные аспекты медицинской микологии — биология возбудителей, клиника, диагностика, эпидемиология, иммунитет, терапия и профилактика микозов, грибы-контаминанты в лабораторных, клинических и других условиях.

Editorial policy: The Journal «Problems in Medical Mycology» specializes in original articles that describe innovative research on all aspects of Medical Mycology — biology of pathogens, clinic, diagnostic, epidemiology, immunity, therapy and prophylaxis of mycoses, fungi — contaminants in laboratory, clinical and other conditions.

СОДЕРЖАНИЕ

ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

Хронобиологический метод изучения биологических свойств *Candida* species. *Николенко М.В.* 3

ОБЗОРЫ

MALDI-TOF масс-спектрометрическая идентификация медицински значимых микромицетов (обзор). *Полищук А.Г.* 8

КЛИНИЧЕСКАЯ МИКОЛОГИЯ

Роль грибов при бронхиальной астме. *Аак О.В., Соколов А.В.* 12

Динамика заболеваемости и видовой состав возбудителей трихомикоза в республике Башкортостан в 1970-2010 гг.
Хисматуллина З.Р., Мухаммадеева О.Р., Попова Д.Р., Габдуллина С.Р. 15

Клинические особенности микозов стоп, кистей и онихомикозов у ВИЧ-инфицированных пациентов. *Иванова Ю.А., Райденко О.В.* 18

Гипоцинкемия у больных микозом стоп и рецидивирующим рожистым воспалением нижних конечностей. *Корнишева В.Г., Пак Е.Ю.* 22

Особенности онихомикозов кистей/стоп у больных с метаболическим синдромом. *Шамли Н.Б., Разнатовский К.И.* 26

Применение средств, корригирующих липидный обмен у больных онихомикозом стоп. *Шамли Н.Б., Разнатовский К.И.* 29

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МИКОЛОГИЯ

Спонтанная изменчивость популяций *Aspergillus niger* V.Tiegh при многоступенчатой селекции штаммов – продуцентов аллергенов. *Журавлева Н.П., Васильева Н.В., Чилина Г.А., Соловьева Г.И.* 32

Грибостойкость некоторых строительных материалов. Сравнительное исследование. *Павлова И.Э., Маметьева А.А., Чилина Г.А., Степанова А.А.* 35

Противогрибковая активность микроорганизмов природной ассоциации «Тибетский рис». *Тихомирова О.М., Иванова Е.А.* 39

Сопоставление востребованности и информативности ПЦР при диагностике урогенитальных инфекций различной этиологии. *Горелова Е.В., Домакова Т.В., Щеглов В.С., Бойцов А.Г.* 43

Особенности взаимодействия *Cryptococcus neoformans* разной вирулентности и альвеолярных макрофагов. *Васильева Н.В., Степанова А.А., Филиппова Л.В., Босак И.А., Синицкая И.А., Чилина Г.А.* 46

ХРОНИКА И ИНФОРМАЦИЯ

Новости из диссертационных советов. *Шевяков М.А.* 51

XX Конгресс Европейской Академии Дерматологии и Венерологии (EADV). *Медведева Т.В., Леина Л.М.* 53

Памяти доктора медицинских и ветеринарных наук профессора Фридриха Штайба. *Елинов Н.П.* 55

CONTENTS

PROBLEM ARTICLES

Chronobiological method of biological properties study of *Candida* species. *Nikolenko M.B.* 3

REVIEWS

Identification of clinically relevant fungi by MALDI-TOF mass-spectrometry. *Polischuk A.G.* 8

CLINICAL MYCOLOGY

The role of fungi on bronchial asthma. *Aak O.V., Sobolev A.V.* 12

The dynamics of morbidity and species composition of the agents' trichomycosis in the Republic of Bashkortostan in 1970-2010.
Khismatullina Z.R., Mukhamadeyeva O.R., Popova D.R., Gabdullina S.R. 15

Clinical peculiarities of feet, hands mycoses and onychomycoses among HIV-infected patients. *Ivanova Ju.A., Raydenko O.V.* . . . 18

Hypo zincemia in patients with Tinea pedis and recurrent erysipelas of lower extremities. *Kornisheva V.G., Pak E.U.* 22

Peculiarities of hand/ foot onychomycoses in patients with metabolic syndrome. *Shamli N.B., Raznatovsky K.I.* 26

Use of lipid metabolism correcting drugs in patients with feet onychomycosis. *Shamli N.B., Raznatovsky K.I.* 29

EXPERIMENTAL MYCOLOGY

The spontaneous variability of populations of *Aspergillus niger* V.Tiegh in multistep selection of strains – allergens producers.
Zhuravleva N.P., Vasilyeva N.V., Chilina G.A., Solovjova G.I. 32

Fungus-firwiness of some building materials. Comparative investigation. *Pavlova I.E., Mametyeva A.A., Chilina G.A., Stepanova A.A.* 35

Antifungal activity of microorganisms from natural association «Tibetan rice». *Tikhomirova O.M., Ivanova E.A.* 39

Comparison of relevant and informative PCR in diagnose of urogenital infections of different etiology. *Gorelova E.V., Domakova T. V., Sheglov V. S., Boitsov A.G.* 43

Peculiarities of *Cryptococcus neoformans* of different virulence interaction and murine alveolar macrophages. *Vasilyeva N.V., Stepanova A.A., Filippova L.V., Bosac I.A., Sinitskaya I.A.* 46

CHRONICLE AND INFORMATION

News of the dissertation councils. *Shevyakov M.A.* 51

The 20th Congress of European Academy of Dermatology and Venerology. *Medvedeva T.V., Leina L.M.* 53

Memories of the doctor of medical and veterinary sciences professor Friedrich Staib. *Yelinov N.P.* 55

ХРОНОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ИЗУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ *CANDIDA SPECIES*

Николенко М.В. (доцент кафедры)*

Кафедра микробиологии ГБОУ ВПО Тюменской государственной медицинской академии Минздравсоцразвития России

© Николенко М.В., 2011

Изучали биологические свойства (пролиферативную, фосфолипазную, протеазную и каталазную активности) музейных штаммов и клинических изолятов *C. albicans*, *C. krusei* в течение суток. Протестировали 18 культур *C. albicans* и 15 изолятов *C. krusei*, выделенных из кишечника пациентов при транзитном носительстве. В проведенном исследовании выявили суточную динамику биологической активности всех изучаемых культур *Candida* spp. Установили время максимального проявления физиологической активности музейных штаммов: у *C. albicans* – в утреннее и дневное время, у *C. krusei* – в вечерне-ночное время. У всех культур грибов, выделенных из организма человека, показатели пролиферативной и ферментативной активности культур имеют сходные амплитудно-фазовые характеристики. В ходе исследования обнаружили, что временная самоорганизация грибной клетки обусловлена не только проявлением генетически детерминированных ритмов жизнедеятельности культуры, но и влиянием внешних "управляющих" параметров.

Ключевые слова: временная организация, *Candida* species, пролиферативная и ферментативная активности

CHRONOBIOLOGICAL METHOD OF BIOLOGICAL PROPERTIES STUDY OF *CANDIDA SPECIES*

Nikolenko M.B. (associate professor of the chair)

Chair of microbiology of Tyumen State Medical Academy, Russia

© Nikolenko M.B., 2011

Proliferation, phospholipase, protease properties and catalase activity of *C. albicans* museum's strains and clinically isolated *C. krusei* have been studied during 24 hours. 18 cultures of *C. albicans* and 15 isolates of *C. krusei* which were taken from the patient's intestine (transitional carrier) were tested. There was a daily biological dynamic in all the studied cultures of *Candida* spp. which was revealed in this research. The time of maximal physiological activity of museum's strains was found: *C. albicans* – in the morning and during daytime hours, *C. krusei* – in the evening and during night-time. Indexes of proliferative and fermentative activity of all the isolates in both species which were isolated from human organism have similar phase descriptions. This research showed that temporary self-organization of a fungus cell is not caused only by genetically determined rhythms of vital activity but also by influence of external controlling parameters.

Key words: *Candida* species, proliferative and fermentative activity, time organization

* Контактное лицо: Николенко Марина Викторовна, тел.: 89058233790

ВВЕДЕНИЕ

Candida spp. – открытая система, поддерживающая свое существование за счет постоянного обмена веществом и энергией с внешней средой [1]. Перспективное направление изучения биологической организации подобного типа – исследование динамики протекающих в них процессов. Среди многочисленных актов, происходящих в живых системах, центральное место принадлежит биологическим ритмам [2], которые первыми реагируют на влияние любого фактора внешней среды [3, 4].

Биоритмы различных функций хорошо изучены у растений, животных и человека. Единичные работы по исследованию динамики активности роста плесневых грибов и водорослей (А.Е. Иванова, 1999) [5-7] не дают представления о временной организации биологической активности *Candida* spp.

Для изучения ритмических колебаний различных функций дрожжевых грибов в качестве модели были выбраны *Candida albicans* и *Candida krusei*, которые являются уникальными микроорганизмами, колонизирующими и поражающими многие органы и ткани, проявляя при этом широкий диапазон адаптационных возможностей [8]. Успехи в изучении биологии грибов помогли относительно полно охарактеризовать факторы адгезии и инвазии *C. albicans* [9-11], однако остаются дискуссионными вопросы о патогенном потенциале и реализации вирулентных свойств у не-*albicans* видов *Candida*.

На наш взгляд, с помощью хронобиологического метода можно по-новому подойти к оценке биологических свойств *Candida* spp. и открыть новые возможности в понимании фундаментальных проблем адаптации.

Цель работы – изучить временную организацию биологических свойств *Candida* species.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали 18 клинических изолятов *C. albicans* и 15 – *C. krusei*, выделенных из кишечника в 10² степени высеваемости. Контролем служили депонированные эталонные штаммы *C. albicans* 24433 АТСС и *C. krusei* 6258 АТСС. Видовую идентификацию грибов проводили по комплексу признаков: внешнему виду колоний, хламидоспорообразованию, тесту на образование ростовых трубок, определению чувствительности дрожжевых организмов к антифунгальным препаратам методом дисков, ассимиляционной способности штамма [8]. Все микроорганизмы выращивали на бульоне Сабуро. Для данной работы использовали 24-часовую культуру, которая соответствовала начальному этапу фазы стационарного роста и покоя. Исследования проводили пять лет, в зимнее время года – в течение суток с 4-х часовым интервалом. Каждая временная точка включала 5 проб. Биоритмы пролиферативной активности грибов изучали по методике, разработанной сотрудниками кафедры микробиологии ГБОУ ВПО ТюмГМА

[12]. Для получения исходной концентрации грибов (1,0 единица по Мак Фарланду), микробную взвесь стандартизировали на приборе «Densi – La – Meter» фирмы «Lachema» и доводили до рабочей концентрации. Посев делали по методу Дригальского и инкубировали при 37 °С в течение суток, затем подсчитывали количество колониеобразующих единиц на 1 мл (КОЕ/мл). Суточную активность фосфолипазы А₂ определяли титрометрическим способом [13] в модификации Суплотова С.Н., Журавлевой Т.Д., 2009 г., в ммоль/л. час [14]. Протеазную активность оценивали по убыли альбумина после инкубации с исследуемыми штаммами биуретовым методом, в мг/мин-мл [15]. Биоритмы активности каталазы определяли фотометрическим методом по убыли пероксида водорода, в мкмоль/мин [16].

Для изучения влияния бактерий – ассоциантов на биологические свойства *Candida* spp. в работе использовали стерильные экстракты *Staphylococcus aureus* (S. aureus) 25923 ATCC, *Escherichia coli* (E. coli) 35218 ATCC, *Pseudomonas aeruginosa* (P. aeruginosa) 27853 ATCC [17].

Статистическую обработку материалов и графическое изображение результатов осуществляли с использованием программ Primer of Biostatics Version 4.03 by Stanton A. Glantz 1998 и Microsoft Office Excel 2003. В случае соответствия сравниваемых выборок нормальному закону распределения (по χ^2) использовали t – критерий Стьюдента. При определении регулирующего влияния экзометаболических микросимбионтов, а также сравнении музейных и клинических изолятов грибов достоверность различия сравниваемых выборок определяли непараметрическим методом статистической обработки: критерий Уилкоксона (W) применяли для связанных выборок, критерий Манна-Уитни (T) – для несвязанных выборок. Анализируемые различия считали достовер-

ными при $p < 0,05$. Для установления связи между параметрами использовали корреляционный анализ по Спирмену (метод ранговой корреляции), относящийся к категории непараметрических, что позволило отказаться от предварительной оценки нормальности распределения сравниваемых признаков [18].

При хронодизайне исследований предусмотрено получение по каждой оцениваемой функции 6-ти измерений в сутки с 3-5-кратным повторением условий эксперимента. Данные были обработаны по методу наименьших квадратов (косинор-анализ) при заданной значимости достоверности $p < 0,05$ [19]. Для каждого штамма впоследствии определяли основные параметры ритмов с периодами T=12 часов и T=24 часа: мезор – среднее значение изучаемого параметра, амплитуда ритма – наибольшее отклонение показателя от мезора и акрофаза – момент времени, когда отмечали максимальное значение исследуемого параметра.

Для анализа хронограмм применяли метод группового косинор-анализа, реализованного в виде прикладной программы «Cosinor Ellipse 2006».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке временных параметров у музейных штаммов и клинических изолятов установили достоверные биологические ритмы всех изучаемых показателей ($p < 0,05$). У эталонного штамма *C. albicans* выявили ультрадианные (около 12-часовые) ритмы пролиферативной активности со стабильными положениями акрофаз в дневное время. Временные ряды каталазной, протеазной и фосфолипазной активностей характеризовались, напротив, статистически значимой циркадианной (окосуточной) ритмичностью. Данные представлены в таблице в виде средних значений с доверительным интервалом ($p < 0,05$) с учетом критерия Стьюдента.

Таблица

Ритмометрические показатели биологической активности клинических изолятов и музейных штаммов *Candida species*

№ штамма	Кол-во культур	Вклад ритма, (%)		Акрофаза (час)	Амплитуда	Мезор (M±m)
		24-х час	12-х час			
пролиферативная активность						
<i>C. albicans</i> 24433 ATCC	1	38,2	60,7*	09.50	39,4 ±4,68	114,2±4,71
<i>C. krusei</i> 6258 ATCC	1	62,4*	37,6	16.20	107,5 ±5,67	105,7±5,62
<i>C. albicans</i>	18	61,3*	38,2	24.00*	141,2 ±13,53*	157,1±9,90*
<i>C. krusei</i>	15	52,8	46,4	20.00	238,3 ±24,50*	234,5±12,60*
фосфолипазная активность						
<i>C. albicans</i> 24433 ATCC	1	74,2*	25,8	07.80	7,2±0,14	8,7±0,03
<i>C. krusei</i> 6258 ATCC	1	42,5	57,5	24.00*	11,7±2,1*	7,4 ±0,39
<i>C. albicans</i>	18	81,1*	19,1	07.60	8,2±0,59	8,6 ±0,23
<i>C. krusei</i>	15	80,0*	18,5	04.00	5,6 ±1,32*	6,3 ±0,90
протеазная активность						
<i>C. albicans</i> 24433 ATCC	1	73,4*	20,0	04.00	0,05±0,01	0,15±0,02
<i>C. krusei</i> 6258 ATCC	1	44,8	49,0	24.00*	0,05±0,01	0,12±0,03
<i>C. albicans</i>	18	60,3*	38,4	07.46	0,09±0,01	0,12±0,01
<i>C. krusei</i>	15	64,1*	32,0	04.00	0,11±0,01*	0,11±0,02
каталазная активность						
<i>C. albicans</i> 24433 ATCC	1	61,5*	30,8	04.15	0,33±0,03	0,47±0,08
<i>C. krusei</i> 6258 ATCC	1	41,8	47,0	20.00*	0,12±0,04	0,28±0,09
<i>C. albicans</i>	18	68,8*	25,0	06.45	0,12±0,01*	0,23±0,03*
<i>C. krusei</i>	15	60,0*	38,5	04.56	0,06±0,02*	0,22±0,01

Примечание: * $p < 0,05$ – достоверность вкладов ритмов

При сопоставлении основных ритмометрических параметров различных уровней интеграции выявили «амплитудно-фазовую стабильность» биологических свойств микроорганизма. Штамм *C. albicans* проявлял максимальную ферментативную активность в ранние утренние часы – 04.00-08.00. В этот временной период грибы активно секретировали ферменты каталазу, протеазу и фосфолипазу. Активность изучаемых факторов патогенности сменялась фазой максимального логарифмического роста микроорганизма. Результаты представлены на рисунке 1.

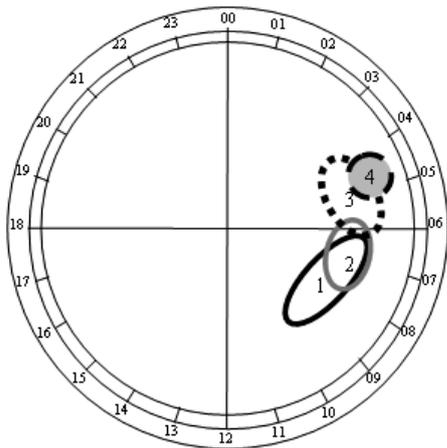


Рис. 1. Амплитудно-фазовая характеристика биологических свойств *C. albicans* 24433 ATCC; T= 24 часа. 1 - пролиферативная активность; 2 - фосфолипазная активность; 3 - каталазная активность; 4 - активность протеазы; по окружности - время суток

Местоположения доверительных эллипсов (контуры которых отграничивают область двумерного пространства – амплитуд и фаз) отражают максимальную временную область проявления биоритмов по результатам популяционного косинор-анализа. Небольшая площадь эллипсов каталазной и фосфолипазной активности отражает значительное постоянство основных параметров биоритмов. При корреляционном анализе обнаружили у музейного штамма прямую зависимость между пролиферативной активностью, с одной стороны, и ферментами патогенности, с другой ($r = +0,67$, $p < 0,05$).

Динамика биологических свойств музейного штамма *C. krusei* характеризовалась иным типом ритмичности. У данной культуры наблюдали циркадианный ритм КОЕ/мл, а в спектральном составе ритмов активности ферментов – усиление 12-ти часовых гармоник (табл.). При хронобиологическом методе выявили у *C. krusei* наличие ферментов патогенности, максимальные значения которых фиксировали в вечерний и ночной период. Значения пролиферативной и протеазной активностей ($r = +0,82$; $p > 0,05$), а также каталазной и фосфолипазной активностей ($r = +0,68$; $p > 0,05$), были синхронизированы между собой во времени (Рис.2).

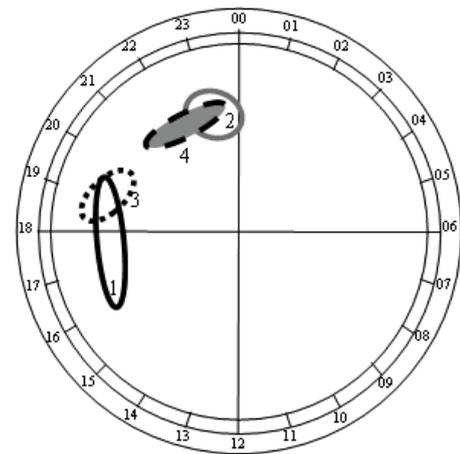


Рис. 2. Амплитудно-фазовая характеристика биологических свойств *C. krusei* 6258 ATCC; T= 24 часа; 1 - пролиферативная активность; 2 - фосфолипазная активность; 3 - каталазная активность; 4 - активность протеазы; по окружности - время суток

При оценке временной организации *C. krusei* 6258 ATCC обнаружили, что реализация биологического потенциала начиналась с активной пролиферации, затем грибы секретировали ферменты агрессии – протеазу, каталазу и фосфолипазу. Для эталонного штамма *C. krusei* также отмечали значительные временные интервалы (с 01.00 до 16.00) отсутствия биологической активности.

В результате нескольких серий исследований при одинаковых условиях проведения экспериментов были получены идентичные результаты. Этот факт послужил основой для предположения о том, что хроноинфраструктура изученных временных рядов биологической активности является видовым, генетически детерминированным, признаком музейных штаммов *Candida* species.

Амплитудно-фазовая характеристика биологической активности культур *C. albicans*, выделенных из кишечника человека, отличалась от такового у музейного варианта. Ферменты агрессии сохранили дневной тип суточной активности, акрофазы регистрировали в 04.00-08.00 часов ($p < 0,05$). Одновременно наблюдали изменение ритмометрических параметров КОЕ/мл (табл.). У всех изучаемых изолятов при степени высеваемости 10^2 КОЕ/мл выявили циркадианные ритмы с характерным профилем, смещением акрофазы на ночное время 23.00-24.00 часов, достоверным повышением мезора и амплитуды колебаний (табл.). Высокие значения мезора и амплитуды колебаний служат показателем стабильности проявления данного фактора, а смещение акрофазы – об адаптации к условиям существования [3]. Хронограмма представлена на рисунке 3.

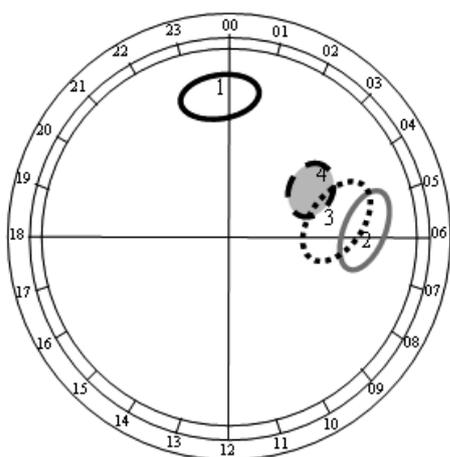


Рис. 3. Амплитудно-фазовая характеристика биологических свойств клинических изолятов *C. albicans*; T= 24 часа; 1 - пролиферативная активность; 2 - фосфолипазная активность; 3 - каталазная активность; 4 - активность протеазы; по окружности - время суток

Периоды физиологической активности начинались с размножения гриба, возрастания популяции, затем микроорганизмы выделяли ферменты защиты и агрессии. Стадия активности сменялась фазой покоя.

На следующем этапе исследований была сделана попытка объяснить изменение временного диапазона биологической активности культур, выделенных из кишечника человека. На микроорганизмы постоянно воздействуют внешние факторы: абиотические – ритм солнечной освещенности (чередование дня и ночи), колебания температуры и т. д. и биологические – ритмы организма человека и/или экзогенные продукты метаболизма микробов-ассоциантов. На музейный штамм *C. albicans* с генетически запрограммированными «биологическими часами» длительно воздействовали температурой 37 °С. Посевы инкубировали в термостате в течение шести суток. Результат оценивали каждые 24 часа. Через 48 часов инкубации при заданной температуре наблюдали смещение акрофазы КОЕ/мл с 12.00 на 16.00 часов. На 5-6 сутки непрерывного воздействия температурой ритмометрические параметры (профиль ритма, мезор, акрофаза) пролиферативной активности музейного штамма соответствовали таковым клинических изолятов (T=37, p<0,05).

Candida spp. как условно-патогенные микроорганизмы самостоятельно не способны вызывать болезнь, их агрессивные свойства усиливаются в ассоциациях с бактериями [10, 21]. Их чаще высевают с грамположительными кокками и грамотрицательными палочками. В следующей серии экспериментов были смоделированы условия патобиоценозов. На музейный штамм *C. albicans* воздействовали метаболитами музейных штаммов *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* и оценивали характер изменений ритмов по предложенным методикам. Выявили, что метаболиты бактерий достоверных изменений суточной динамики изучаемых показателей у *C. albicans* не вызывали (W=10, p>0,05). Следовательно, биоритмы изуча-

емых свойств достаточно стабильны во времени, по возможности независимы от многочисленных воздействий за счет своей внутренней синхронизации.

В хроноинфраструктуре клинических изолятов *C. krusei* выявили существенные отличия по сравнению с музейным штаммом (табл.). В спектральном составе биоритмов всех показателей преобладал циркадианный вклад ритма (p<0,05). Среднесуточные значения и амплитуда колебаний пролиферативной и протеазной активности достоверно возрастали в 2 раза, а амплитуда активности фосфолипазы и каталазы снижалась в 2 раза. Из этого следует, что в одной и той же клетке адаптивная интенсивность синтеза одних ферментов обязательно сопровождается ингибированием продукции других [2]. Изменился тип ритмичности всех изучаемых параметров у культур *C. krusei*. Акрофазы околосуточных ритмов ферментативной активности регистрировали в ранние утренние часы, время максимального проявления пролиферативной активности сместилось с 16.00 на 22.00 часа (Рис. 4).

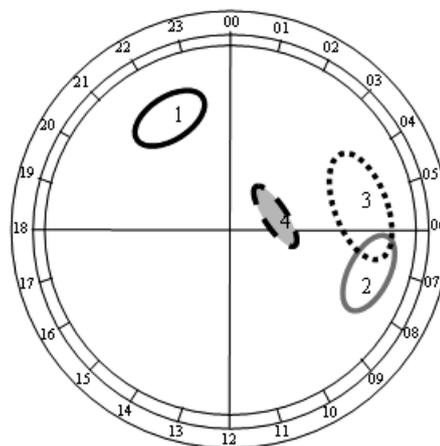


Рис. 4. Амплитудно-фазовая характеристика биологических свойств клинических изолятов *C. krusei*; T= 24 часа. 1 – пролиферативная активность; 2 - фосфолипазная активность; 3 - каталазная активность; 4 - активность протеазы; по окружности - время суток

При воздействии на *C. krusei* 6258 ATCC температуры 37 °С через 72 часа выявили изменения ритмометрических характеристик пролиферативной активности: профиля ритма, акрофазы, мезора и амплитуды (T=38, p<0,05). Эти параметры соответствовали данным, полученным с клиническими изолятами. На временные ряды активности ферментов температура не оказывала влияния. Изменение типа ритмичности патогенных свойств *C. krusei* вызывали метаболиты грамотрицательной микробиоты. Метаболиты *P. aeruginosa* изменяли время проявления максимальных значений протеазы (W= 46, p<0,05), а метаболиты *E. coli* смещали акрофазу каталазной и фосфолипазной активностей с ночного времени на ранние утренние часы (W=52, p<0,05; W= 19, p>0,05 соответственно). Таким образом, культуры *C. krusei* более подвержены влиянию различных биотических и абиотических факторов. Высокая лабильность

биоритмов изучаемых свойств дает возможность постоянно подстраиваться к новой среде обитания, сохраняя численность популяции и патогенный потенциал.

В результате проведенной работы выявили три основных момента. Во-первых, сходство фазовых характеристик всех изучаемых клинических изолятов *Candida* spp., во-вторых, обратную корреляцию между пролиферативной активностью и патогенными свойствами культур, выделенных из организма человека (у *C. albicans* $r = -0,58$; $p < 0,05$; у *C. krusei* – $r = -0,72$; $p < 0,05$). Установили, что в период минимальной пролиферативной активности грибов обоих видов продукция ферментов (фосфолипазы, про-

теазы, каталазы) была максимально выражена, что может способствовать выживанию патогенов в организме хозяина. В-третьих, температура является регулятором ритмичности пролиферативной активности изученных культур.

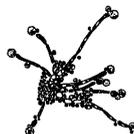
Таким образом, тест-микробицеты имеют возможность изменять частоту своих физиологических ритмов, обеспечивать быструю адаптацию к различным условиям жизнедеятельности и сохранять гомеостаз [21]. Выявленное существование динамики биологических свойств представителей *Candida* species открывает перспективы для фундаментальных и прикладных исследований в данном направлении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шевяков М.А. Авалуева Е.Б., Барышников Н.В. Грибы рода *Candida* в кишечнике: клинические аспекты (обзор) // Проблемы медицинской микологии. – 2007. – Т.9, №4. – С. 4-11.
2. Комаров Ф.И., Рапопорт С.И. Хронобиология и хрономедицина. – М.: «Триада-Х», 2000. – 400 с.
3. Хетагурова А.Г. Патофизиология десинхронозов //Владикавказский медико-биологический вестник. – 2005. – Т. 5, Вып. 9. – С. 32-40.
4. Валиева М.В., Хетагурова А.Г., Хуберцова Н.О., Тагаева И.Р. Биологические ритмы физиологических функций у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом //Владикавказский медико-биологический вестник. – 2006-2007. – Т. 6. Вып. 11-12. – С. 16-20.
5. Быстрова Е.Ю. Исследование пространственно-временной самоорганизации в колониях грибов из класса *Neurospora*: Автореф. дисс... канд. биол. наук. – СПб., 2007. – 17 с.
6. Калита Т.Л. Инфрадианные ритмы роста, деления клеток и репродукции у морских водорослей: Автореф. дисс... канд. биол. наук, Владивосток, 2007. – 37 с.
7. Блажеевская, Ю.В., Вембер В.В., Жданова Н.Н. Сравнительный анализ скорости радиального роста микробицетов, выделенных из различных экотопов //Микробиол. журнал. – 2002. – Т. 64, № 3. – С. 3-11.
8. Елинов Н.П., Васильева Н.В., Степанова А.А., Чилина Г.А. *Candida*. Кандидозы. Лабораторная диагностика /Под редакцией проф. Н.П. Елинова – СПб.: Коста, 2010. – 224 с.
9. Зеленова Е.Г. Заславская М.И., Махрова Т.В. Кандиды: экология, морфофункциональные особенности и факторы патогенности //Нижегородский медицинский журнал. – 2002. – № 1. – С. 73-83.
10. Лисовская С.А. Новый подход к оценке патогенного потенциала клинических штаммов *Candida albicans*: Автореф. дисс...канд. мед. наук. – Казань, 2008. – 25 с.
11. Алешукина А.В. Колонизирующая способность *Candida* spp. при дисбиозах кишечника //Проблемы медицинской микологии. – 2009. – Т.11, №1.– С. 25-29.
12. Патент на изобретение № 2285258 «Способ диагностики госпитальных штаммов» // Кашуба Э.А., Тимохина Т.Х., Курлович Н.А., Паромова Я.И., Варницына В.В., Хохлавина Р.М., Губин Д.Г., Козлов Л.Б. – 2006 г. – 11 с.
13. Тужилин С.А., Салуэнья А.И. Метод определения активности фосфолипазы A_2 в сыворотке крови //Лабораторное дело. – 1975. – № 6. – С. 334-336.
14. Суплотов С.Н., Журавлева Т.Д. Адаптация человека к авиаполетам. Липопероксидация в эритроцитах и ее регуляция. Методы лабораторной диагностики. – Тюмень: ООО «Печатник», 2009. – 104 с.
15. Практикум по микробиологии /Под ред. А.И. Нетрусова. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с.
16. Патент РФ № 2180353 «Способ выявления у бактерий ингибиторов каталазы микроорганизмов» //Бухарин О.В., Сгибнев А.В., Черкасов С.В., Иванов Ю.Б. – 2002 г.
17. Перунова Н.Б. Характеристика биологических свойств микроорганизмов в бактериально-грибковых ассоциациях кишечника: Автореф дисс... канд. мед. наук, Оренбург, 2003. – 25 с.
18. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
19. Nelson W., Tong Y.L., Lee.K., et al. Methods for cosinorhythmometry // Chronobiologia. – 1979. – Vol.6, № 4. – P. 305-323.
20. Хмельницкий О.К. О кандидозе слизистых оболочек //Архив патологии. – 2000. – Т.62. – С. 3-10.
21. Смирнов С.Н., Захаров В.Б., Мамонтов С.Г. Становление суточного ритма пролиферации клеток в раннем постнатальном онтогенезе крыс //М-лы Первого Российского съезда по хронобиологии и хрономедицине. – Владикавказ: ИПО СОИГСИ, 2008. – С. 86-87.

Поступила в редакцию журнала 25.10.2011

Рецензент: М.А. Шевяков



MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРО-МЕТРИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ МЕДИЦИНСКИ ЗНАЧИМЫХ МИКРОМИЦЕТОВ (ОБЗОР)

Полищук А.Г. (ведущий научный сотрудник)*

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

© Полищук А.Г., 2011

Времяпролетная масс-спектрометрия с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS) – это метод идентификации микроорганизмов, основанный на анализе их белкового содержимого. Высокая точность идентификации бактерий этим методом была подчеркнута в большом количестве публикаций. Метод экономичен по затратам времени и финансовых средств, в сравнении с обычно применяемыми биохимическими системами идентификации (БСИ), и подходит для рутинной диагностики, базирующейся на высокой пропускной способности. В статье описано текущее состояние MALDI-TOF MS систем для идентификации медицински значимых микромицетов. Для нитчатых грибов метод MALDI-TOF MS находится на ранней стадии развития.

Ключевые слова: идентификация видов, MALDI-TOF масс-спектрометрия, медицински значимые микромицеты

IDENTIFICATION OF CLINICALLY RELEVANT FUNGI BY MALDI-TOF MASS-SPECTROMETRY

Polischuk A.G. (leading scientific collaborator)

Kashkin Research Institute of Medical Mycology of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

© Polischuk A.G., 2011

Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) is a method for identification of microorganisms based on analysis of their protein content. Numerous studies have demonstrated the accuracy of this technology for bacterial identification. It is a time-saving and less expensive alternative to conventional biochemical identification systems (BIS), and it is suitable for high-throughput routine diagnostics. In this article a current status of development of MALDI-TOF systems for identification of clinically relevant fungi is described. For filamentous fungi, the technique is at early stage of development.

Key words: clinically relevant fungi, MALDI-TOF mass-spectrometry

* Контактное лицо: Полищук Анна Генриховна
Тел.: (812) 303-51-40

Прямое белковое профилирование с помощью времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS от *англ.* matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass-spectrometry) является методом быстрой видовой идентификации патогенных микроорганизмов.

Масс-спектрометрия (МС) – измерение молекулярной массы ионов по их поведению в электрических или магнитных полях. Она осуществляется посредством разделения разных масс в пространстве и времени. MALDI-TOF – это вариант МС, в котором применяют технологию «мягкой» ионизации под действием лазерного излучения, позволяющую анализировать молекулы с большой молекулярной массой, в частности, молекулы белков [1]. С помощью метода можно анализировать белковую фракцию микробной клетки без фракционирования и очистки отдельных белков (прямое белковое профилирование) и получать с высокой точностью и разрешением уникальные для данного вида микроорганизма масс-спектры, характеризующие исследуемый объект по типу «отпечатков пальцев». Метод был разработан 23 года назад [2, 3], его начали использовать для идентификации бактерий в научно-исследовательских лабораториях с конца 1990 годов, а для рутинной диагностики бактерий в микробиологических лабораториях – с 2009 г. [4]. Первая публикация по идентификации патогенных грибов с использованием технологии MALDI-TOF MS появилась в 2007 г. [5].

Процедура идентификации

Первый этап видовой идентификации патогенных грибов с использованием MALDI-TOF MS – получение чистой культуры гриба из клинического материала. Следующими этапами являются пробоподготовка, получение белковых спектров лизированного материала с применением масс-спектрометрического оборудования, обработка полученных спектров с использованием специального программного обеспечения и сравнение полученного спектрального профиля с теми, что имеются в белковой спектральной базе данных. В спектральной базе данных каждому виду микромицета соответствует специфический набор масс-спектров, в чем и заключается принцип видовой идентификации грибов. Процесс пробоподготовки включает в себя лизис клеток гриба и кристаллизации на подложке лизированного материала с веществом-матрицей, функция которой заключается в способствовании перехода молекул лизата в газовую фазу и их ионизации. Подложку затем помещают в MALDI-TOF MS инструмент, в котором под воздействием импульсов лазерного излучения на матрицу с анализируемым веществом происходят его десорбция (переход в газовую фазу) и ионизация, образовавшиеся ионы разделяются в электрическом

поле и детектируются, а их масса анализируется с помощью специального программного обеспечения. В настоящее время для рутинной идентификации микроорганизмов используют MALDI-TOF MS оборудование производства компаний Bruker Daltonik GmbH (Германия) и Shimadzu (Япония). Bruker Daltonik GmbH предлагает, в сочетании с MALDI-TOF MS инструментом, свое программное обеспечение и белковую спектральную базу данных (Biotyper). В MALDI-TOF MS систему от Shimadzu входит программное обеспечение этой компании (Launchpad software) и база данных SARAMIS, разработанная компанией Anagnostec GmbH (Германия) и недавно приобретенная компанией BioMérieux (Франция). Описана и другая система (программное обеспечение с базой данных) – Andromas (Франция), которая может быть использована с масс-спектрометрами обеих компаний Bruker Daltonik и Shimadzu.

Для получения чистой культуры патогенных микромицетов требуется от трех-пяти дней (дрожжевые организмы) до трех недель (дерматомицеты), в то время как для всех остальных этапов масс-спектрометрической идентификации – ~1-2 часа. Поэтому исключение этапа получения культуры гриба из процедуры идентификации является ключевым моментом для существенного сокращения времени идентификации. Получение четкой белковой масс-спектральной картины, специфичной для патогенного микроорганизма, непосредственно в клинических образцах методически затруднено из-за наличия в лизированном материале комплекса белковых молекул, принадлежащих клеткам пациента, а также в случае использования жидких сред для выращивания патогена, белковых компонентов сред. В связи с этим в настоящее время проводят интенсивные исследования с целью разработки способа очистки белков гриба от контаминирующего материала, присутствующего в клинических образцах. Ко времени написания этой статьи опубликованы три работы, в которых представлены результаты усовершенствования этапа пробоподготовки для идентификации дрожжеподобных микромицетов непосредственно в образцах крови. В работе Marinach-Patrice C. с соавторами использовали кровь здоровых людей, инокулированную определенным количеством клеток *Candida sp.* Образцы крови культивировали в гемокультиваторе Vactec до тех пор, пока они не регистрировались прибором как положительные, и, затем, проводили MS анализ. Для получения масс-спектров, достаточных для анализа качества, авторы использовали 2 мл положительной культуры и 1,5 мл 0,1% додецилсульфата натрия в качестве лизирующего агента. Используя этот метод пробоподготовки, они смогли правильно идентифицировать все образцы *Candida spp.* [6]. Ferroni A. с коллегами использовали 5% раствор сапонила для селективного разрушения эритроцитов крови и высвобождения интактных дрожжевых клеток, которые затем концентрировались центрифугированием. Клеточный концентрат далее анализировали

в масс-спектрометре. Таким образом значительно снижался белковый спектральный фон от клеточных компонентов крови и обеспечивался читаемый масс-спектр, специфичный для анализируемого микромицета. В этой работе была успешно проведена идентификация *Candida spp.* не только в инокулированных клетками дрожжей образцах крови здоровых людей, но и в положительных образцах крови пациентов [7]. И, наконец, Yan Y. с соавторами использовали набор реактивов для пробоподготовки (MALDI Sepsityper kit), разработанный Bruker Daltonik и предназначенный для идентификации бактерий и дрожжеподобных микромицетов непосредственно из образцов крови. С применением этого набора не была получена надежная видовая идентификация. Авторы статьи добавили к процедуре пробоподготовки две отмывки образцов водой (до этапа лизиса с использованием Sepsityper) и с помощью этой модификации добились 100% корректной идентификации *Candida spp.* в 43 образцах крови пациентов, зарегистрированных в Vactec FX культиваторе как положительные [8].

Диагностическая чувствительность MALDI-TOF MS

В одиннадцати из двенадцати исследований чувствительность масс-спектрометрической идентификации микромицетов была 95-100% и только в одном исследовании – 85%. Чувствительность идентификации измеряли как процент совпадения результатов масс-спектрометрического анализа с результатами референсного метода идентификации. Референсным методом для идентификации нитчатых *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.* и дерматомицетов было сиквенирование определенных фрагментов их ДНК и исследование морфологии этих грибов [5, 9-11]. Для дрожжей и дрожжеподобных грибов в качестве референсного метода использовали либо определение эффективности метаболических процессов в клетках грибов (биохимический метод), либо сочетание этого метода с сиквенированием фрагментов генов рибосомальной ДНК грибов [8, 12-17]. В последнем случае, сначала сравнивали результаты биохимических тестов и MS анализа, а затем, в случае несовпадения результатов этих двух анализов, использовали метод сиквенирования для подтверждения результата. В качестве биохимических систем идентификации использовали API тесты и VITEK колориметрические карты компании BioMérieux, Murex/Remel (США) и Auxacolor тест компании Bio-Rad (США). С применением API и VITEK биохимических систем измеряют способность дрожжевых грибов утилизировать углеводы, кроме этого, с помощью VITEK анализируют активность некоторых ферментов углеводного, белкового и жирового обменов и способность утилизировать некоторые источники азота (всего 63 биохимические реакции). В случаях несовпадения результатов MS и биохимической идентификации, сиквенированием обычно подтверждали видовую идентификацию, полученную MS методом, что сви-

детельствовало о его большей чувствительности по сравнению с биохимическим методом. Еще раз подчеркнем, что в случае дрожжевых изолятов сиквенировались только те образцы, для которых результаты МС и биохимической идентификации не совпадали (5-9% всех проанализированных образцов), и, таким образом, истинный процент совпадения результатов МС и сиквенирования не известен. Однако в случае нитчатых микромицетов сиквенировались все образцы, которые проходили МС идентификацию, и доля совпавших результатов этих двух анализов составила 98,5-100%.

MALDI-TOF МС обладает большей дискриминационной способностью по сравнению с биохимическими методами идентификации. Например, с помощью API/VITEK системы не удастся разделить генетически гетерогенную популяцию *Candida parapsilosis* на группы, в то время как с помощью MALDI-TOF МС были выделены 3 группы, составляющие вид *C. parapsilosis*: *C. parapsilosis*, *C. metapsilosis* и *C. orthopsilosis* [12]. Разделение вида *C. parapsilosis* на три новых вида подтверждено результатами сиквенирования и других молекулярных методов [12]. Дискриминация между этими видами может быть важна с терапевтической точки зрения, поскольку недавно было показано, что *C. parapsilosis*, *C. metapsilosis* и *C. orthopsilosis* имеют разные профили чувствительности к эхинокандинам [18].

Аналитическая чувствительность MALDI-TOF МС

Yan Y. с соавторами оценили минимальную концентрацию обнаруживаемых дрожжевых клеток в позитивных культурах крови пациентов, которая обеспечивает надежную видовую идентификацию методом MALDI-TOF МС. Она оказалась равна 600 000 КОЕ/мл [8]. Для сравнения, MALDI-TOF масс-спектрометрическая чувствительность обнаружения бактерий составляет ≈ 1000 КОЕ/мл [19,20], а с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) возможно обнаружить одну клетку патогенного гриба в 1 мл крови [21].

Факторы, влияющие на эффективность идентификации

Одним из основных условий для успешной видовой идентификации микроорганизмов является качество референсной масс-спектрометрической базы данных. В качестве референсных баз данных в работах использовали или коммерческие базы данных – Biotyper 2.0, SARAMIS, Andromas [7, 8, 11-14, 17], или базы данных, созданные самими авторами работ [5, 6, 9, 10]. Был и промежуточный вариант, когда коммерческие базы данных дополняли в ходе выполнения работы [15, 16]. Ярким примером, иллюстрирующим влияние наполненности референсной базы данных на эффективность видовой идентификации, является работа Marklein G. с соавторами по видовой идентификации дрожжевых изолятов. При

первом раунде идентификации, когда авторы использовали коммерческую масс-спектральную базу данных Biotyper 2.0 в качестве референсной, удалось правильно идентифицировать 90% образцов. Однако после того, как авторы дополнили Biotyper 2.0 масс-спектрометрическими «фингерпринтингами» тех видов рода *Candida*, которые отсутствовали в этой базе, но присутствовали (по результатам сиквенирования) в анализируемой выборке, оставшиеся 10% образцов были также успешно идентифицированы [16].

Качество референсной базы масс-спектров также зависит от того, насколько она полно отражает физиологические особенности грибов. Каждую минуту в клетке живых организмов происходят мириады событий, изменяющих ее белковый состав качественно и количественно. Эти изменения необходимы для пространственной и временной регуляции физиологических процессов в клетке, в частности, для перехода гриба из одного физиологического состояния в другое (например, из фазы активного роста в фазу споруляции). Учитывая это, Alanio A. с коллегами создали масс-спектральную базу *Aspergillus* spp., которая включила спектры белков, полученных из материала молодых и спорулирующих колоний. Таким образом, стало возможным получение высоко воспроизводимых результатов в независимости от зрелости тестируемого изолята [9].

Еще одним важным фактором, влияющим на качество получаемых спектров и на воспроизводимость результатов, является изменение спектрального состава клетки в ходе адаптации грибов к различным условиям существования. Так, например, было показано, что масс-спектральная картина клеток гриба изменяется в зависимости от температуры и времени выращивания, а также состава питательной среды [10, 22, 23]. Таким образом, стандартизация условий выращивания является еще одним ключом к успешной видовой идентификации микромицетов с использованием масс-спектрометрического анализа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Технология MALDI-TOF масс-спектрометрической идентификации микромицетов имеет ряд преимуществ перед биохимическими методами идентификации. Она обладает высокой скоростью измерения, низкой стоимостью используемых реактивов и материалов и простой пробоподготовкой. В экспериментальных работах показано, что MALDI-TOF МС обладает высокой диагностической чувствительностью и дискриминационной способностью. Хотя пока не оценено, как MALDI-TOF МС функционирует в рутинной диагностике микромицетов, эти ее качества отвечают требованиям, предъявляемым к технологиям, используемым в рутинной диагностической практике. Технология имеет, однако, на данном этапе развития существенный недостаток – она обладает низкой аналитической чувствительностью, поэтому идентификация микро-

мицетов напрямую в клиническом материале остается проблемой. Для повышения порога обнаружения патогенных грибов необходимо введение дополнительной процедуры в процесс пробоподготовки, позволяющей «обогащать» материал клинического образца грибными белками. Уже достигнуты опре-

деленные успехи в этом направлении, а принимая во внимание стремительность развития MALDI-TOF MS технологии, вполне вероятно, что идентификация микромицетов в клиническом материале без предварительного получения чистой культуры гриба будет возможна в скором будущем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sauer S., Kliem M. Mass spectrometry tools for the classification and identification of bacteria // Nat. Rev. Microbiol. – 2010. – Vol. 8. – P. 74-82.
2. Tanaka K., Waki H., Ido Y., et al. Protein and polymer analyses up to m/z 100000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry // Rapid Commun. Mass Spectrom. – 1988. – Vol. 2. – P. 151-153.
3. Karas M., Bachmann D., Bahr D., Hillenkamp F. Matrix-assisted ultraviolet-laser desorption of nonvolatile compounds // Int. J. Mass Spectrom. Ion Proc. – 1987. – Vol. 78. – P. 53-68.
4. Emonet S., Shah H.N., Cherkaoui A., Schrenzel J. Application and use of various mass spectrometry methods in clinical microbiology // Clin. Microbiol. Infect. – 2010. – Vol. 16. – P. 1604-1613.
5. Erhard M., Hipler U.-C., Burmester A., et al. Identification of dermatophyte species causing onychomycosis and tinea pedis by MALDI-TOF mass spectrometry // Exp. Dermatol. – 2008. – Vol. 17. – P. 356-361.
6. Marinach-Patrice C., Fekkar A., Atanasova R., et al. Rapid species diagnosis for invasive candidiasis using mass spectrometry // PLoS One. – 2010. – Vol. 5. – e8862.
7. Ferroni A., Suarez S., Beretti J.L., et al. Real-time identification of bacteria and *Candida* species in positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry // J. Clin. Microbiol. – 2010. – Vol. 48. – P. 1542-1548.
8. Yan Y., He Y., Maier T., et al. Improved identification of yeast species directly from positive blood culture media by combining Sepsityper specimen processing and Microflex analysis with the matrix-assisted laser desorption ionization Biotyper system // J. Clin. Microbiol. – 2011. – Vol. 49. – P. 2528-2532.
9. Alanio A., Beretti J.L., Dauphin B., et al. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry for fast and accurate identification of clinically relevant *Aspergillus* species // Clin. Microbiol. Infect. – 2011. – Vol. 17. – P. 750-755.
10. Marinach-Patrice C., Lethuillier A., Marly A., et al. Use of mass spectrometry to identify clinical *Fusarium* isolates // Clin. Microbiol. Infect. – 2009. – Vol. 15. – P. 634-642.
11. Seyfarth F., Ziemer M., Sayer H.G., et al. The use of ITS DNA sequence analysis and MALDI-TOF mass spectrometry in diagnosing an infection with *Fusarium proliferatum* // Exp. Dermatol. – 2008. – Vol. 17. – P. 965-971.
12. Quiles-Melero I., Garcia-Rodriguez J., Gomez-Lopez A., Mingorance J. Evaluation of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry for identification of *Candida parapsilosis*, *C. orthopsilosis* and *C. metapsilosis* // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. – 2011. – doi 10.1007/s10096-011-1277-z.
13. Bader O., Weig M., Taverner-Ghadwal L., et al. Improved clinical laboratory identification of human pathogenic yeasts by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry // Clin. Microbiol. Infect. – 2011. – Vol. 17. – P. 1359-1365.
14. Putignani L., Del Chierico F., Onori M., et al. MALDI-TOF mass spectrometry proteomic phenotyping of clinically relevant fungi // Mol. Biosyst. – 2011. – Vol. 7. – P. 620-629.
15. Stevenson L.G., Drake S.K., Shea Y.R., et al. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of clinically important yeast species // J. Clin. Microbiol. – 2010. – Vol. 48. – P. 3482-3486.
16. Marklein G., Josten M., Klanke U., et al. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for fast and reliable identification of clinical yeast isolates // J. Clin. Microbiol. – 2009. – Vol. 47. – P. 2912-2917.
17. van Veen S.Q., Claas E.C.J., Kuijper Ed J. High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories // J. Clin. Microbiol. – 2010. – Vol. 48. – P. 900-907.
18. Lockhart S.R., Messer S.A., Pfaller M.A., Diekema D.J. Geographic distribution and antifungal susceptibility of the newly described species *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* in comparison to the closely related species *Candida parapsilosis* // J. Clin. Microbiol. – 2008. – Vol. 46. – P. 2659-2664.
19. Guo Z., Liu Y., Li S., Yang Z. Interaction of bacteria and ion-exchange particles and its potential in separation for matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometric identification of bacteria in water // Rapid Commun. Mass Spectrom. – 2009. – Vol. 23. – P. 3983-3993.
20. Zhou N., Wang N., Xu B., et al. Whole-cell matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry for rapid identification of bacteria cultured in liquid media // Sci. China Life Sci. – 2011. – Vol. 54. – P. 48-53.
21. White P.L., Bretagne S., Klingspor L., et al. *Aspergillus* PCR: One Step Closer to Standardization // J. Clin. Microbiol. – 2010. – Vol. 48. – P. 1231-1240.
22. Hettick J.M., Green B.J., Buskirk A.D., et al. Discrimination of *Penicillium* isolates by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry fingerprinting // Rapid Commun. Mass Spectrom. – 2008. – Vol. 22. – P. 2555-2560.
23. Qian J., Cutler J.E., Cole R.B., Cai Y. MALDI-TOF mass signatures for differentiation of yeast species, strain grouping and monitoring of morphogenesis markers // Anal. Bioanal. Chem. – 2008. – Vol. 392. – P. 439-449.

Поступила в редакцию журнала 15.10.2011

Рецензент: С.В. Сидоренко

РОЛЬ ГРИБОВ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ

Аак О.В. (вед.н.с.)*, Соболев А.В. (профессор кафедры)

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

© Аак О.В., Соболев А.В., 2011

В статье приведены клинические данные, свидетельствующие о широкой распространенности микогенной сенсibilизации у больных атопической бронхиальной астмой. Рассмотрены особенности диагностики и лечения астмы у сенсibilизированных к грибам пациентов.

Ключевые слова: бронхиальная астма, микогенная сенсibilизация

THE ROLE OF FUNGI ON BRONCHIAL ASTHMA

Aak O.V. (leading scientific collaborator), Sobolev A.V. (professor of the chair)

Kashkin Research Institute of Medical Mycology of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

© Aak O.V., Sobolev A.V., 2011

The article contains clinical evidence of high frequency of mold sensitization among patients with allergic asthma and its impact on diagnostics and the treatment of asthma.

Key words: asthma, mold sensitization

Аллергия к грибам представляет серьезную проблему в медицинской практике в течение многих лет. Термин «микоаллергозы» был предложен в октябре 1983 года на совещании экспертов ВОЗ, чтобы подчеркнуть значимость грибов в развитии аллергических заболеваний. Во многих индустриальных странах грибы являются причиной возникновения профессиональных заболеваний. Более 2% больных бронхиальной астмой связывают её развитие непосредственно с профессиональными факторами.

Бронхиальная астма (БА) – распространённое заболевание среди населения развитых стран. По данным разных авторов, ею страдают 8-10% взрослых и 10-15% детей. Несмотря на повышение уровня жизни и качества медицинского обслуживания, имеют место рост заболеваемости и тяжести течения БА. Многие пациенты недостаточно грамотно оценивают состояние своего здоровья и не получают достаточной базисной терапии; 57% пациентов с астмой, получающих лечение, не контролируются аллергологами в Европе [1].

Значительную долю (до 40%) в клинико-патогенетических проявлениях БА составляют атопический и сочетанный ее варианты, при которых болезнь возникает в результате сенсibilизации к неинфекционным аллергенам. Многочисленными исследованиями этиологической роли различных ингаляционных аллергенов показано, что сенсibilизация к одному или более роду микромицетов является значительным отягощающим фактором при тяжелом течении заболевания. Менее значительное влияние установлено для аллергенов клещей, а пыльцевые и эпидермальные аллергены не ассоциируются с тяжестью заболевания [2]. В другом исследовании с использованием радиоаллергосорбентного теста выявили увеличение частоты микогенной сенсibilизации в два раза у больных БА с тяжелым и среднетяжелым течением в сравнении с контрольной группой и группой больных с легкой формой заболевания [3].

Связь БА с микогенной аллергией известна с 1698 г. благодаря работам Фойера. В 30-х годах прошлого века обнаружили (в ряде случаев с применением и ингаляционных провокационных тестов) рода *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Alternaria*, *Cladosporium* и некоторые другие, аллергия к которым влияет на течение заболевания. С симптомами респираторной аллергии связывают около 80 родов грибов [4], однако в Австралии, Новой Зеландии, США и некоторых странах Европы в качестве основного причинно-значимого внешнего фактора у больных атопической БА выступает сенсibilизация преимущественно к аллергенам грибов родов *Alternaria* и *Cladosporium* [2]. При проведении кожных тестов наиболее часто положительные результаты получают у больных с потенциально смертельной БА [5]. Частота обострений и смертность зависят, в значительной степени, от концентрации спор микромицетов в атмосферном воздухе. Следует указать, что летальность возрастает в 2,16 раза при концентрации спор

* Контактное лицо: Аак Олег Владимирович
Тел.: (812) 303-51-40

в воздухе более 1000 КОЕ/м³ в сравнении с уровнями ниже 1000 КОЕ/м³ [6]. Высокая аллергенная нагрузка приходится на лето и осень, но может сохраняться и в течение всего года при поражении микромицетами жилых помещений. При визуальных признаках плесени в помещениях в воздухе могут создаваться концентрации спор до 3000 КОЕ/м³ [7].

До сих пор нет окончательного ответа на вопрос, почему именно микогенная сенсibilизация является наиболее отягощающим течением атопической БА фактором [8].

Приведенными данными подтверждается серьезность угрозы здоровью при БА, отягощенной микогенной сенсibilизацией, и определяется необходимость продолжения клинико-лабораторных исследований в области микогенной аллергии.

В консультативно-диагностическом отделении НИИ медицинской микологии им. П.Н.Кашкина ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова за 2008-2011 годы было проведено обследование 813 лиц в возрасте от 18 до 72 лет, обратившихся с жалобами на приступы затрудненного дыхания и удушья. Из них диагноз БА был поставлен 653 пациентам, в том числе атопический вариант – 253 (38%). 224 больных бронхиальной астмой прошли углубленное обследование в условиях стационара микологической клиники, из них: 85 человек с атопическим вариантом течения БА (38%), 122 пациента – со смешанным вариантом БА (54%) и 17 – с неаллергическим вариантом течения БА (8%). Таким образом, больные с наличием атопии составили 207 человек (92%). Аллергологическое обследование больных атопической БА проводили иммунохемилюминесцентным методом с применением МАСТ-панелей (Hitachi) для определения уровней специфических IgE к бытовым, пищевым, пыльцевым, эпидермальным и грибковым аллергенам в сыворотке крови. Также определяли уровень общего IgE.

На основании данных аллергообследования у 34 (13,4%) больных была выявлена микогенная сенсibilизация. В том числе у 21 больного – к *Penicillium* spp., у 12 – к *Mucor* spp., у 11 – к *Aspergillus* spp., у 11 – к *Candida* spp., у 6 – к *Cladosporium* spp., у 3 – к *Alternaria* spp. Отметим, что *C. albicans* не является аэроаллергеном, а в качестве комменсала входит в состав нормобиоты человека. Присутствие в крови реактивных антител к этому микромицету, вероятно, объясняется перекрестной реактивностью по ряду консервативных грибных аллергенов, например, по енолазам [9]. Перекрестная реактивность, возможно, является причиной и множественной сенсibilизации к микромицетам.

В группе пациентов, сенсibilизированных к грибам, основными были жалобы на кашель с трудноотделяемой мокротой, ночные приступы удушья и низкую эффективность обычных бронхолитических препаратов. Следует указать, что больные с повышенной чувствительностью к *Alternaria* spp. имели наиболее тяжелое течение БА, нередко с признаками

гормонозависимости. Средний уровень общего IgE при микогенной сенсibilизации (574 МЕ/мл) более чем в два раза превышал среднее значение IgE (221 МЕ/мл) у атопиков, реагирующих на бытовые, пыльцевые и эпидермальные аллергены.

У 3 пациентов с бронхиальной астмой, имеющих гиперергическую реакцию (++++) к *Aspergillus* spp. и высокий уровень общего IgE, был установлен диагноз аллергического бронхолегочного аспергиллеза (АБЛА). У всех пациентов подтвержден контакт с плесневыми грибами в быту (проживание в квартире, пораженной плесневыми грибами) или же на производстве (работа озеленителем, контакт с проросшими микромицетами и обильно обсемененными опилками на деревообрабатывающем предприятии).

В одном из случаев диагноз АБЛА был поставлен на ранней стадии развития заболевания по результатам аллергодиагностики до наступления патологических изменений в легких, что позволило назначить лечение итраконазолом и кортикостероидными гормонами и добиться ремиссии. При этом наблюдали значительное снижение общего и специфического IgE к *Aspergillus* spp. Результаты лабораторных тестов подтвердили правильность постановки диагноза и назначения антимикотика. При БА, отягощенной аллергией к *Aspergillus* spp., но в отсутствие колонизации верхних дыхательных путей, снижения уровней IgE не происходит. При поздней же диагностике эффективность лечения снижается, что может привести к смерти больного.

Клинически установить диагноз микогенной аллергии не представляется возможным. В то же время он важен для выработки тактики лечения БА. В этой связи необходимо проведение аллерготестов, в том числе – на грибы, пыльцу, бытовые и эпидермальные аллергены. При проведении аллерготестов на грибы следует помнить о проблеме гипо- и гипердиагностики микогенной сенсibilизации [10] и отдавать предпочтение зарекомендовавшим себя тест-системам (аллергенам – при постановке кожных проб). Желательно параллельное проведение (когда это возможно) кожных проб и серодиагностики. Также рекомендуют не ограничиваться при выполнении анализа определением антител к *A. fumigatus*, а определять реактивные антитела к наиболее распространенным в окружающей среде родам грибов. Получаемые в ходе лабораторных анализов результаты следует оценивать с учетом широкой перекрестной реактивности грибных аллергенов. Для выявления источника сенсibilизации может потребоваться проведение микробиологических тестов – посевов проб воздуха и различных субстратов, с которыми наиболее часто контактировал больной. Тем более, нельзя по результатам серодиагностики определить виновный в сенсibilизации микромицет до вида, с той оговоркой, что для рода *Aspergillus* выявлено наибольшее алергизирующее действие *A. fumigatus*, и вероятность его участия в сенсibilизации больного очень высока.

ЛИТЕРАТУРА

1. Walters R., Annunziata K., Castillo G. Is asthma a sorted out disease? Results of a European survey// EAACI Congress. – 2009. – Abstract 167.
2. Zureik M., Neukirch C., Leynaert B., et al. Sensitisation to airborne moulds and severity of asthma: cross sectional study from European Community respiratory health survey //Brit. Med. J. – 2002. – Vol. 325. – P. 411-414.
3. Langley S.J., Goldthorpe G., Truman N., et al. Impaired lung function in asthma is associated with sensitization to airborne moulds //Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2004. – Vol. 169. – P. 309.
4. Horner W.E., Helbling A., Salvaggio J.E., Lehrer S.B. Fungal allergens //Microbiol. Rev. – 1995. – Vol. 8. – №2. – P. 161-179.
5. O'Hollaren M.T., Yunginger J.W., Offord K.P., et al. Exposure to an aeroallergen as a possible precipitating factor in respiratory arrest in young patients with asthma// N. Engl. J. Med. – 1991. – Vol. 324. – P. 359-363.
6. Targonski P.V., Persky V.W., Ramekrishnan V. Effect of environmental molds on risk of death from asthma during the pollen season// J. Allergy Clin. Immunol. – 1995. –Vol. 95. – P.955-961.
7. Соболев А.В., Козлова Я.И., Аак О.В. и др. Микогенная аллергия у жителей помещений, пораженных плесневыми микромицетами //Материалы науч.-практ. конф. «Актуальные вопросы пульмонологии и клинической аллергологии – врачам общей практики», Санкт-Петербург, 2006 г. – С. 18-19.
8. Аак О.В. Аллергены грибов. Особенности микогенной сенсибилизации//Проблемы медицинской микологии. – 2005. – Т. 7, №2. – С. 12-16.
9. Bowyer P., Fraczek M., Denning D.W. Comparative genomics of fungal allergens and epitopes shows widespread distribution of closely related allergen and epitope orthologues// BMC Genomics. – 2006. –Vol. 7. – P.251-265.
10. Соболев А.В., Аак О.В. Особенности диагностики аллергических заболеваний в клинической практике// Медлайн Экспресс. – 2006. – Т. 186, №2-3. – С. 64-65.

Поступила в редакцию журнала 14.11.2011

Рецензент: В.С. Митрофанов



ДИНАМИКА ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ И ВИДОВОЙ СОСТАВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ТРИХОМИКОЗА В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН В 1970-2010 ГГ.

**Хисматуллина З.Р. (зав. кафедрой),
Мухамадеева О.Р. (ассистент кафедры),
Попова Д.Р. (аспирант)*, Габдуллина С.Р.
(аспирант)**

Кафедра дерматовенерологии Башкирского государственного медицинского университета, Уфа, Россия

© Коллектив авторов, 2011

Нами проведено ретроспективное изучение динамики заболеваемости и видового состава возбудителей трихомикоза в республике Башкортостан за последние 40 лет (с 1970 по 2010 годы). Представлены структура заболеваемости, возбудителей и источников инфекции, указаны основные причины распространения микоза. Даны рекомендации по улучшению работы по профилактике распространения трихомикозов в республике.

Ключевые слова: заболеваемость, трихомикоз, эпидемиологический анализ

THE DYNAMICS OF MORBIDITY AND SPECIES COMPOSITION OF THE AGENTS' TRICHOMYOSIS IN THE REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN IN 1970-2010.

**Khismatullina Z.R. (head of the chair),
Mukhamadeyeva O.R. (assistant lecturer of the
chair), Popova D.R. (postgraduate student),
Gabdullina S.R. (postgraduate student)**

Chair of dermatovenereology of Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

© Collective of authors, 2011

The retrospective study of the incidence of dynamics and species composition of the trichomycosis pathogen in the Republic of Bashkortostan over the past 40 years (from 1970 to 2010) has been conducted. Structure morbidity, agents and sources of infection are the main reasons for the spread of mycosis have been presented. Recommendations designed to improve in prevention of trichomycosis in the country have been done.

Key words: epidemiological analysis, morbidity, trichomycosis

* Контактное лицо: Попова Дилара Раулевна
Тел.: 8-917-41-34-350

В настоящее время в Республике Башкортостан (РБ), несмотря на организационные и противоэпидемические мероприятия, трихомикоз (трихофития) остается часто встречающимся заболеванием среди сельского населения. Согласно данным литературы, эпидемические вспышки этой инфекции также регистрируют в различных странах мира и ряде регионов нашей страны [1, 2, 3]. РБ на протяжении многих лет остается регионом Российской Федерации (РФ) с высоким уровнем заболеваемости трихомикозом [2, 4]. Самым неблагоприятно протекающим является зооантропонозный трихомикоз. При этой инфекции часто имеет место развитие нагноительных форм в короткие сроки, в результате чего формируется рубцовая атрофия. Одним из необходимых условий борьбы с трихомикозом является знание динамики заболеваемости и видового состава возбудителей. Правильная оценка этих факторов имеет важное значение для определения мер, направленных на снижение и ликвидацию заболевания [1, 3, 5].

Цель настоящей работы – ретроспективное изучение динамики заболеваемости и видового состава возбудителей трихомикоза в РБ за последние 40 лет (с 1970 по 2010 годы).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования послужили статистические данные (регистрационные извещения – форма № 089/у-93) Республиканского кожно-венерологического диспансера, архивные материалы годовых отчетов лечебно-профилактических учреждений РБ, сборника «Ресурсы и деятельность кожно-венерологических учреждений. Заболеваемость за 2009-2010 годы (статистические материалы)» (Москва, 2011), Аналитического обзора по заболеваемости, ресурсам и деятельности кожно-венерологических учреждений (2008-2009 гг.) (Москва, 2010).

Показатели заболеваемости трихомикозом в 1970-2010 гг. были разделены на два периода: первый период с 1970 по 2000 гг., второй – с 2001 по 2010 гг. Данное разделение было обусловлено изменениями темпов снижения заболеваемости дерматомикозом.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С 1970 года отмечали снижение заболеваемости трихомикозом в РБ, что было обусловлено климатическим фактором: засухой на всей территории республики и, соответственно, отсутствием кормовой базы не только для грызунов, но и для крупного рогатого скота. Изменение уровня заболеваемости на протяжении 1970-2000 гг. носило волнообразный характер. Наблюдали периоды спада (1970-1973 гг., 1974-1978 гг., 1981-1984 гг., 1985-1989 гг., 1994-1996 гг.) и подъема (1979-1980 гг., 1990-1993 гг.), в период с 1997 года до 2000 года выявили некоторую стабилизацию показателей (в среднем, 14,5 на 100 тысяч населения). В целом, отмечали тенденцию к снижению заболеваемости: так, если в 1970 году показатель заболеваемости составлял 70,1 на 100 тысяч населения,

то к 1986 году он снизился почти в 3 раза (25,7 на 100 тысяч населения), а к 2000 году – в 4 раза (17,2 на 100 тысяч населения) (Рис. 1).

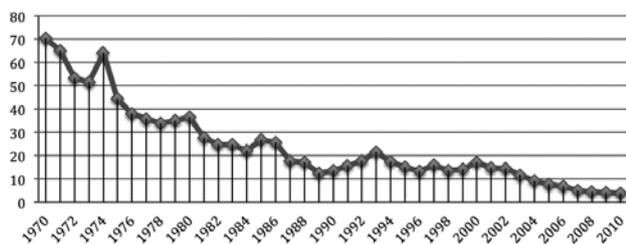


Рис. 1. Заболеваемость трихомикозом в Республике Башкортостан в 1970-2010 гг.

Начиная с 2001 года по настоящее время, в республике имело место только снижение уровня заболеваемости. Ежегодно он уменьшается, в среднем, на 1,4 (на 100 тысяч населения). Однако, несмотря на положительную динамику, республиканские показатели продолжают превышать общероссийские в несколько раз (Рис. 2).

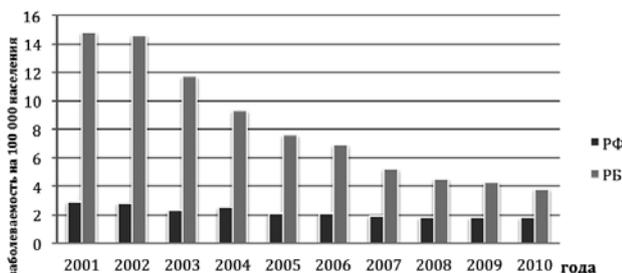


Рис. 2. Заболеваемость трихомикозом в Российской Федерации и Республике Башкортостан в 2001-2010 гг.

В течение последних 40 лет РБ неизменно входит в десятку наиболее неблагоприятных субъектов РФ по трихомикозам. В Приволжском Федеральном округе (ПФО) РБ находится на первом месте по заболеваемости трихомикозом и обуславливает 55% случаев в округе. На другие 13 областей приходится только 45% случаев заболевания. Так, в 2000 году показатель заболеваемости трихомикозом в РБ, в среднем, превысил показатели прилегающих к республике территориях в 3,5 раза, в 2010 году – в 5 раз (Рис. 3).

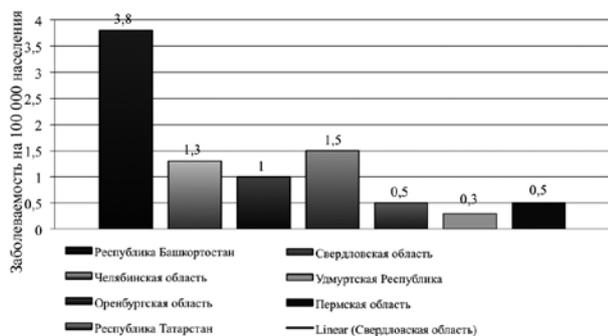


Рис. 3. Заболеваемость трихомикозом в Республике Башкортостан и граничащих с ней территориях в 2010 г.

В результате проведенного исследования выявили, что на протяжении обоих изучаемых периодов, большую часть больных трихомикозом составили

сельские жители (от 64% до 95% в разные годы). В 2010 году заболеваемость в сельских районах составила 7,6 на 100 тысяч населения, в городах республики – 1,25 на 100 тысяч населения. В общем числе больных детского возраста в 2001-2010 гг. трихомикоз, в среднем, составил 65,3%, аналогичные данные получены и в предыдущем периоде с 1970 по 2000 гг. В РФ также преобладала заболеваемость среди детского населения. В 2010 г. в общей структуре заболеваемости населения трихомикозом в РФ дети составили 58,6%, в РБ – 56,3%. Среди всех зарегистрированных больных в обоих периодах преобладали лица мужского пола (57,2% и 54,6% соответственно).

В период 1970-2000 гг., среди всех зарегистрированных больных трихомикозом, 47,4% являлись активно выявленными. Активное выявление больных при всех видах профилактических обследований во втором периоде варьировало в разные годы от 17,1% до 32,7% (в 2010 году – 20,5%), в среднем – 26,7%. Таким образом, доля активно выявленных больных трихомикозом за период 2001-2010 гг. значительно снизилась, по сравнению с предыдущим периодом, в 2,3 раза (на 20,7%). Также уменьшилось число обследованных контактов на одного зарегистрированного больного. За последние 10 лет показатель составил, в среднем, 8,6, что в два раза меньше, чем за предыдущий период (16,9).

В 1990 году профессор Э.В. Чистякова, сопоставляя географические данные, разделила Республику Башкортостан на отдельные территориальные комплексы (нозоареалы) и определила зависимость распространения зооантропонозного трихомикоза от климато-географических факторов. Мы проанализировали показатели заболеваемости трихомикозом по нозоареалам за последние 10 лет и сопоставили их с данными, полученными профессором Э.В. Чистяковой. Оказалось, что наши данные совпадают с результатами проведенных ранее исследований. Отметим, что в целом картина заболеваемости трихомикозом в нозоареалах остается примерно такой же (северные регионы РБ). В частности, если на протяжении длительного времени северо-восточный нозоареал был наиболее неблагоприятным (до 98,8 на 100 тысяч населения), то за последние десять лет на первое место по заболеваемости вышел северо-западный территориальный комплекс (уровень заболеваемости в отдельных его районах достигает 27,5 на 100 тысяч населения). Учитывая тот факт, что в областях, прилегающих к республике, вне зависимости от территориального нозоареала и уровня в них заболеваемости трихомикозом, показатели остаются на достаточно низком уровне на протяжении многих лет, можно предположить, что причиной сложившейся эпидемиологической ситуации в РБ являются не климато-географические особенности, а, в основном, медико-социальные факторы.

При изучении микобиоты в 1970-2010 гг. в структуре возбудителей трихомикоза до 1986 года отмечали преобладание антропофильных трихофи-

тонов. Зоофильные дерматомицеты (*Trichophyton verrucosum* Bodin, *T. mentagrophytes* var. *gypseum* Robin) регистрировали в 19-37% случаев, однако с каждым годом наблюдали увеличение их числа в структуре возбудителей трихомикоза. Начиная с 1986 года, зоофильные трихофитоны стали практически единственными возбудителями изучаемой нами инфекции (до 100% в отдельные годы). В настоящее время на территории РБ выявляют *T. verrucosum*, *T. gypseum*, *T. quinckeanum*, *T. equinum*. Процентное соотношение возбудителей трихомикоза в отдельные годы варьирует, причем преобладает ежегодно и в целом *T. verrucosum* (в среднем, до 86,3%), второе место занимает *T. gypseum* (до 9,8%). Однако с 2001 года в республике снова стали регистрировать антропонозный трихомикоз. Структура возбудителей этого заболевания в РБ представлена на рисунке 4.

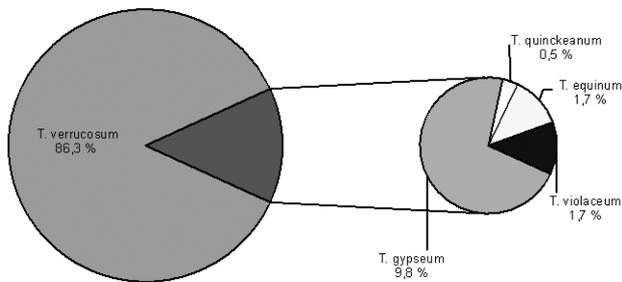


Рис.4. Этиологическая структура трихомикоза в РБ в 2001-2010 годах

Так, за последние десять лет выявили 36 больных антропофильным трихомикозом, обусловленным *T. violaceum* Sabour, что составило до 1,7% в этиологической структуре трихофитии в РБ. Среди зоофильных грибов *T. verrucosum* Bodin занимает доминирующее положение – до 86,3%. Начиная с 2001 года, несколько чаще стали регистрировать *T. mentagrophytes* Robin, достигая в общем числе культур до 9,8%. Подъем заболеваемости трихомикозом, обусловленным этим возбудителем, отмечали в 2001 году (16,8 на 100 тысяч населения). С 2001 году, впервые за последние 25 лет, стали появляться культуры *T. equinum* Gedoelst – 1,7% в структуре возбудителей. У всех больных источниками заражения были лошади. *T. quinckeanum* обнаруживали достаточно редко – до 0,5% случаев заболевания.

Изменение преобладания в структуре возбудителей трихомикозов с антропофильных на зоофиль-

ных привело к смене источников заражения. В период с 1970-1986 гг. это были члены семьи, дети соседей, одноклассники, а также крупный рогатый скот (с незначительным преобладанием последнего, до 53% случаев). Достаточно часто источник инфекции установить не удавалось. С 1987 года основным источником заражения стал крупный рогатый скот (до 59% случаев), причем в 80% случаев – домашний скот в личном подворье.

Проведенным анализом заболеваемости и видового состава возбудителей трихомикоза в РБ показано, что в течение исследуемого периода с 1970 года по 2010 год произошли следующие изменения:

1. уровень заболеваемости трихомикозом значительно снизился (в 18,5 раз) и стабилизировался с четкой тенденцией к постепенному снижению показателей, однако остается значительно выше уровня заболеваемости в других областях ПФО. РБ продолжает входить в десятку неблагополучных территорий по трихофитии в РФ;

2. основной контингент больных трихофитией составляет детское население сельской местности (до 58,6%);

3. наиболее неблагоприятными по заболеваемости трихомикозом остаются северные нозоареолы РБ, с преобладанием северо-западного территориального комплекса;

4. в последние годы чаще стали регистрировать антропонозный трихомикоз, обусловленный *T. violaceum* Sabour, а также выявлять новых возбудителей зооантропонозного трихомикоза: *T. violaceum* Sabour, *T. equinum* Gedoelst, *T. denticulatum* Sabour;

5. доминирующим источником заражения является домашний крупный рогатый скот.

Таким образом, сложившаяся на сегодняшний день ситуация в РБ требует проведения следующих мероприятий:

1. своевременного выявления источников инфекции и обследования контактных лиц;

2. проведения широкой санитарно-просветительной работы среди сельского населения, врачей-специалистов и врачей общей практики, среднего медицинского персонала;

3. усиления ветеринарного контроля над животными, находящимися в домашнем хозяйстве, увеличения объемов вакцинации домашнего крупного рогатого скота.

ЛИТЕРАТУРА

1. Суворова К.Н. Заболеваемость дерматомицетами в различных округах Российской Федерации в 2003-2006 гг. // Вестник последипломного медицинского образования. – 2007. – № 3. – С. 14-19.
2. Корсунская И.М. Дерматомикозы в педиатрии // Педиатрия. Consilium medicum. – 2005. – №2. – С. 90-91.
3. Хисматуллина З.Р., Мухаммадеева О.Р., Гуцина Р.Г. Эпидемиология трихофитии в Республике Башкортостан в 1970-2003 гг. // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2005. – №3. – С. 40-42.
4. Потеекаев Н.Н., Корсунская И.М., Серов Д.Н. Микотическая инфекция в России: заболеваемость, клинические характеристики, опыт терапии отечественными антимикотиками // Клиническая дерматология и венерология: научно-практический журнал. – 2006. – №3. – С. 92-94.
5. Латыпов А.Б., Шарафутдинова Н.Х., Турьянов А.Х., Хисматуллина З.Р. Анализ заболеваемости зооантропонозной трихофитией в Республике Башкортостан // Здравоохранение Российской Федерации. – 2007. – №3. – С. 43-45.

Поступила в редакцию журнала 11.10.2011

Рецензент: В.Г. Корнишева

КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МИКОЗОВ СТОП, КИСТЕЙ И ОНИХОМИКОЗОВ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

**Иванова Ю.А. (ассистент кафедры)*,
Райденко О.В. (врач-дерматовенеролог)**

Кафедра дерматовенерологии Алтайского государственного медицинского университета; Алтайский краевой центр по борьбе и профилактике со СПИДом и другими инфекционными заболеваниями, г. Барнаул, Россия

© Иванова Ю.А., Райденко О.В., 2011

В статье проанализирована распространенность поверхностных микозов у ВИЧ-инфицированных больных в различных географических зонах, показана частота кожных заболеваний и дана сравнительная характеристика клинической картины микозов стоп, кистей и онихомикозов в различные стадии ВИЧ-инфекции.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, микоз кистей, микоз стоп, онихомикоз

CLINICAL PECULIARITIES OF FEET, HANDS MYCOSES AND ONYCHOMYCOSES AMONG HIV-INFECTED PATIENTS

**Ivanova Ju.A. (assistant lecturer
of the chair), Raydenko O.V.
(dermatovenereologist)**

Chair of Dermatology and Venereology, Altay State Medical University; Altay Regional Center for prevention and against AIDS, Barnaul, Russia

© Ivanova Ju.A., Raydenko O.V., 2011

Prevalence of surface mycoses among HIV-infected patients in different geographic areas (including the Altai region), the frequency of skin diseases is also represented with a comparative analysis of the clinical picture of feet mycosis, hand mycosis and onychomycosis at different stages of HIV- infection has been analyzed in the article.

Key words: HIV-infection, foot mycosis, hand mycosis, onychomycosis

По статистике в России ежегодно выявляют, в среднем, 200 тысяч больных микозами стоп, при этом регистрируют около 100 тысяч пациентов с онихомикозом. За рубежом частота онихомикозов в популяции составляет от 3 до 10%, возрастая у лиц с сахарным диабетом до 26%, у пациентов с иммуносупрессией – до 11-67% и у населения старше 60 лет – до 30% [1].

ВИЧ-инфекция – болезнь, вызванная вирусом иммунодефицита человека, – антропонозное инфекционное хроническое заболевание, характеризующееся специфическим поражением иммунной системы, приводящим к медленному ее разрушению до формирования синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД), сопровождающегося развитием оппортунистических инфекций и вторичных злокачественных новообразований. Выделяют следующие стадии ВИЧ-инфекции: 1. Стадия инкубации. 2. Стадия первичных проявлений: А. Бессимптомная. Б. Острая ВИЧ-инфекция без вторичных заболеваний. В. Острая инфекция с вторичными заболеваниями. 3. Латентная стадия. 4. Стадия вторичных заболеваний (А, Б, В), которая характеризуется потерей массы тела, грибковыми, вирусными, бактериальными поражениями кожи и слизистых оболочек, поражениями внутренних органов, туберкулезом легких, диссеминированной саркомой Капоши. 5. Терминальная стадия [2].

При анализе имеющихся на сегодняшний день зарубежных сведений по вопросу распространенности грибковых инфекций кожи и ее придатков у ВИЧ-инфицированных больных в латентной стадии ВИЧ и в стадии СПИДа выявили следующие данные: в отделении дерматологии и венерологии больницы Университета Гетте, Германия за период 1983-2004 гг. из 2149 ВИЧ-инфицированных у 502 (23%) был обнаружен дерматомикоз различной локализации; распространенность грибковых заболеваний у ВИЧ-инфицированных, обратившихся в поликлиники в Кингстоне на Ямайке в 2000-2006 гг., составила 29% от общего числа кожных заболеваний; по данным индийских исследователей, доля грибковой инфекции кожи у этой категории пациентов составляет 8-16,7%; в Сенегале и на Тайване – 16%; в Канаде – 20%; в Бразилии – 24%; в Малайзии – 9,9% [3-9].

По данным индийского департамента дерматологии, венерологии и лепрологии за 2007 год, одним из ранних проявлений ВИЧ-инфекции является онихомикоз. Индийскими исследователями было осмотрено 250 ВИЧ-инфицированных лиц, из которых у 60 больных клинически заподозрили грибковую инфекцию: у 38 пациентов – онихомикоз стоп, у 12 – онихомикоз кистей, у 10 – сочетание онихомикоза кистей и стоп. У 19 больных диагностировали микоз стоп, у 5 – микоз кистей, у 10 – микоз туловища и у 7 – микоз нижних конечностей. Клинические формы онихомикозов у ВИЧ-инфицированных лиц были

* Контактное лицо: Иванова Юлия Александровна
Тел.: (3852)62-40-11

Таблица 1

Частота кожных заболеваний у ВИЧ-инфицированных лиц

Название заболевания	Число больных	Доля от всех ВИЧ-инфицированных
Дерматомикозы	62	29,5%
Herpes zoster	15	7,14%
Пиодермия	15	7,14%
Аллергический дерматит	13	6,23%
Ксероз	12	5,71%
Экзема	11	5,24%
Контактный дерматит	11	5,24%
Угревая болезнь	8	3,9%
Алопеция	7	3,3%
Псориаз	6	2,86%
Остроконечные кондиломы	6	2,86%
Себорейный дерматит	5	2,38%
Вирус простого герпеса, фациальной локализации	5	2,38%
Отрубевидный лишай	3	1,42%
Крапивница	2	0,95%
Чесотка	2	0,95%
Опухолевидное образование	1	0,48%
Акне розацеа	1	0,48%
Периоральный дерматит	1	0,48%
Саркома Капоши	1	0,48%
Без патологии	23	10,95%
Итого	210	100%

распределены следующим образом: дистальный и латеральный поверхностный онихомикоз – 21 (35%) респондентов, тотальный дистрофический онихомикоз – 33 (55%), проксимальный подногтевой онихомикоз – 5 (8,33%), белый поверхностный онихомикоз – 1 (1,66%) [5].

В Алтайском краевом центре по борьбе со СПИДом проводили клиничко-лабораторное исследование ВИЧ-инфицированных пациентов на предмет наличия у них поверхностных микозов, которые мы представляем в данной работе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Всего обследовано 210 пациентов с различными стадиями ВИЧ-инфекции: 63 женщины (30%) и 147 мужчин (70%); средний возраст больных – 42 года.

ВИЧ-инфекцию диагностировали на основании эпидемиологических данных и подтверждали обнаружением антител методами ИФА и иммунного блоттинга к белкам вируса иммунодефицита человека I типа. Всем больным проводили иммунологическое исследование и определяли вирусную нагрузку.

Для выявления поверхностного микоза проводили клинический осмотр больных, при наличии клинических проявлений дерматомикоза – микроскопическое исследование.

Для микроскопии скальпелем брали соскобы с пораженных участков ногтей и кожи. У больных онихомикозом патологический материал для исследования забирали с поверхностных и средних слоев ногтевых пластин, помещали в пробирку с раствором едкого кали (20% раствор КОН) на 3 часа, после чего переносили на предметное стекло, наложив покровное стекло, и проводили микроскопию на световом микроскопе.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из 210 ВИЧ-инфицированных пациентов, обследованных на наличие заболеваний кожи и ее придатков, патологию выявили у 187 (89,05%). Частота встречаемости патологии кожи и ее придатков представлена в таблице 1.

Наиболее часто встречаемой патологией кожи были различные инфекции грибковой, вирусной и бактериальной этиологии, при этом частота дерматомикозов в 4 раза выше, чем герпетической инфекции и пиодермий. Среди неинфекционных заболеваний ведущее место занимали различные дерматиты, ксероз и экзема. Саркому Капоши диагностировали у 1 пациента, что составило менее 0,5% от всех обследуемых лиц.

Микозы туловища, конечностей и волосистой части головы были представлены отрубевидным лишаем и себорейным дерматитом, где основным этиологическим фактором выступали грибы рода *Mallasezia*. Дерматомикозов гладкой кожи и волосистой части головы у обследуемых пациентов не выявили. Клинические варианты поверхностных микозов были распределены следующим образом: они-

хомикоз кистей и стоп в сочетании с микозом стоп и кистей – 3 (4,84%) пациента, онихомикоз кистей и стоп – 10 (16,13%), онихомикоз стоп и микоз стоп – 30 (48,39%), онихомикоз стоп – 19 (30,65%), отрубевидный лишай – 3 (1,42%), себорейный дерматит – 5 (2,38%) больных.

Клиническая картина поверхностных микозов у ВИЧ-инфицированных пациентов выглядела следующим образом:

1. *Тотальный онихомикоз стоп*: в патологический процесс вовлечены 3 и более ногтевые пластинки, которые утолщены, гипертрофированы, деформированы, крошатся, тусклые, с неровной борозчатой поверхностью, поражение распространяется на весь ноготь, выражен подногтевой гиперкератоз – 3 мм и более. Проксимальный ногтевой валик гиперемированный, отечный, блестящий. Ногтевая пластинка имеет желто-серый цвет.

2. *Тотальный онихомикоз кистей*: в патологический процесс вовлечены от 3 ногтей на одной кисти, поверхность ногтей тусклая, желтая. Ногтевое ложе покрыто рыхлыми гиперкератотическими наслоениями, имеет место лизис ногтевой пластинки, проксимальный ногтевой валик отечный, гиперемированный, блестящий.

3. *Латеральный онихомикоз кистей и стоп*: ногтевые пластинки в области боковых валиков с обеих сторон, тусклые, с бело-желтым оттенком, крошатся, свободный край их приобретает шероховатый вид и фрагментарно распадается, в результате чего остается ногтевое ложе.

4. *Дистальный онихомикоз стоп*: микотический процесс затрагивает свободный край ногтевой пластины на 1/3-1/2 поверхности, характерен нормотрофический тип поражения или гипертрофический с гиперкератозом 1-2 мм, поверхность пластины неровная, формируются продольные борозды, что

придает ногтю бороздчатый вид, цвет желто-серый, блеск сохранен.

5. *Проксимальный онихомикоз стоп*: патологический процесс локализуется на проксимальной части ногтя в виде белого пятна округлой формы. Ногтевая пластина не разрушена.

6. *Микоз стоп* представлен несколькими клиническими вариантами:

✓ Сквамозная форма – на коже стоп на подошвах имеется выраженный гиперкератоз, мелкое отрубевидное шелушение, в пяточной области и в области больших пальцев обеих стоп – множественные трещины.

✓ Интертригинозная форма характеризуется набуханием и мацерацией рогового слоя кожи в глубине межпальцевых складок стоп. За счет отслоения рогового слоя кожи образуются поверхностные эрозии и довольно глубокие трещины.

✓ Дисгидротическая форма: на задней поверхности стопы располагаются эритематозно-везикулезные очаги, выражена инфильтрация, характерна толстая роговая покрывка.

7. *Микоз кистей* – на фоне умеренной эритемы имеется мелкое отрубевидное шелушение, есте-

ственные борозды как будто присыпаны мукой.

Описанные клинические варианты микозов стоп, кистей и онихомикозов имели свои особенности и отличались тяжестью течения в зависимости от стадии ВИЧ-инфекции, которые представлены в таблице 2.

У ВИЧ-инфицированных пациентов в 3 латентной стадии при онихомикозе стоп преобладал гипертрофический тип поражения, который выявили у 65,5% больных, реже наблюдали нормотрофический тип, онихолизис не регистрировали. Ногтевые пластины были поражены тотально более чем в половине случаев, у трети больных отмечали дистально-латеральную локализацию поражения и лишь у одного пациента – проксимальную. Цвет ногтевых пластин варьировал от желтого до серо-желтого, околоногтевые валики были вовлечены в патологический процесс у 30% больных. Степень гиперкератоза – 1-2 мм. Преобладало поражение первых пальцев стоп (65,5%). Сочетание онихомикоза кистей и стоп выявили у 2 пациентов из 29. С одинаковой частотой наблюдали нормотрофический и гипертрофический типы онихомикоза кистей, онихолизис не регистрировали. Степень гиперкератоза составляла до

Таблица 2.

Клиника поверхностных микозов в зависимости от стадии ВИЧ-инфекции

Онихомикоз стоп	Онихомикоз кистей	Микоз стоп	Микоз кистей
3 латентная стадия (29 человек)			
<p>Тип поражения: нормотрофический – 34,5% (10 чел.) гипертрофический – 65,5% (19 чел.) онихолизис – 0%</p> <p>Локализация поражения: Дистально-латеральн. – 31% (9 чел.) Проксим. – 3,5% (1 чел.) Тотальный – 65,5% (19 чел.)</p> <p>Цвет ногтевых пластин: желтый, желто-серый</p> <p>Степень гиперкератоза: до 1 мм – 0%, 1-2 мм – 65,5%, более 2 мм – 0%</p> <p>Околоногтевые валики: вовлечены у 30%</p> <p>Глубина поражения: 1/3 – 34,5%, 1/2 – 0%, 2/3 – 0%, тотально – 65,5%</p> <p>Поражено ногтевых пластин: 1 – 65,5%, несколько – 20,7%, все – 13,8%</p>	<p>Тип поражения: нормотрофический – 3,5% (1 чел.) гипертрофический – 3,5% (1 чел.) онихолизис – 0%</p> <p>Локализация поражения: Дистально-латеральн. – 3,5% (1 чел.) Проксимальн. – 0% Тотальный – 3,5% (1 чел.)</p> <p>Цвет ногтевых пластин: бело-желтый.</p> <p>Степень гиперкератоза: до 1 мм – 3,5%, 1-2 мм – 0%, более 2 мм – 0%</p> <p>Околоногтевые валики: не поражены</p> <p>Глубина поражения: 1/3 – 3,5%, 1/2 – 0%, 2/3 – 0%, тотально – 3,5%</p> <p>Поражено ногтевых пластин: 1 – 3,5%, несколько – 3,5%</p>	Сквамозная форма, поверхностные трещины	-
Стадии 4А, 4Б, 4В (33 человека)			
<p>Тип поражения: нормотрофический – 15,2% (5 чел.) гипертрофический – 84,8% (28 чел.) онихолизис – 0%</p> <p>Локализация поражения: Дистальный – 15,2%, Латеральный – 0%, Проксимальный – 0%, Тотальный – 84,8%</p> <p>Цвет ногтевых пластин: желтый, желто-серый</p> <p>Степень гиперкератоза: до 1 мм – 0%, 1-2 мм – 30%, более 2 мм – 70%</p> <p>Поражение околоногтевых валиков – 90%</p> <p>Глубина поражения: 1/3 – 0%, 1/2 – 15,2%, 2/3 – 0%, Тотально – 84,8%</p> <p>Поражено ногтевых пластин: 1 – 27,3%, несколько – 18,2% все – 4,5%</p>	<p>Тип поражения: нормотрофический – 0% гипертрофический – 9% (3 чел.) онихолизис – 24% (8 чел.)</p> <p>Локализация поражения: Дистально-латеральный – 0% Проксимальный – Тотальный – 33%</p> <p>Цвет ногтевых пластин: бело-желтый.</p> <p>Степень гиперкератоза: до 1 мм – 98%, 1-2 мм – 0%, более 2 мм – 0%</p> <p>Поражение околоногтевых валиков – 9%</p> <p>Глубина поражения: 1/3 – 0%, 1/2 – 0%, 2/3 – 0%, тотально – 33%</p> <p>Поражено ногтевых пластин: 1 – 0% несколько – 24% все – 9%</p>	Сквамозная, интертригинозная, дисгидротическая формы	Сквамозно-эритематозная форма

1 мм. Околоногтевые валики в микотический процесс не вовлекались, у половины больных ногтевая пластина была поражена тотально. Микоз стоп представлен только сквамозной формой с глубокими поверхностными трещинами.

У ВИЧ-инфицированных пациентов в 4 стадии подавляющим был гипертрофический тип с тотальной формой поражения (84,8%), нормотрофический тип и дистальная локализация грибковой инфекции – у 15,2%, онихолизис не регистрировали. Цвет ногтевых пластин – желтый или серо-желтый, околоногтевые валики вовлечены в патологический процесс в 90% случаев. Преобладало поражение всех ногтевых пластин. Сочетание онихомикоза стоп и кистей обнаружили у 11 из 33 человек. Преобладал онихолитический тип поражения ногтевых пластин кистей, гипертрофический тип – у 9% пациентов, нормотрофический тип не регистрировали. В патологический процесс вовлекались ногтевые валики у 9% больных. У всех пациентов ногти поражены тотально. Микоз стоп представлен несколькими клиническими вариантами – сквамозной, интертригинозной и дисгидротической. Только в эту стадию ВИЧ-инфекции регистрировали микоз кистей, представленный сквамозной формой.

ВЫВОДЫ

1. Частота поверхностных микозов в популяции составляет от 3 до 10% и возрастает в 5-6 раз у пациентов на фоне иммуносупрессии, в частности, частота поверхностных микозов у ВИЧ-инфицированных лиц в исследуемой группе составила 32,83% от общего количества кожных заболеваний.

2. Наиболее часто встречаемой патологией кожи у ВИЧ-инфицированных больных являются различные инфекции: грибковые, вирусные, бактериальные. При этом частота дерматомикозов в 4 раза выше, чем герпетической инфекции и пиодермий.

3. Среди неинфекционных заболеваний кожи

ведущее место занимают различные дерматиты, ксероз и экзема.

4. Среди поверхностных микозов онихомикоз стоп в сочетании с микозом стоп диагностировали почти у половины больных, изолированный онихомикоз стоп – у трети пациентов, остальные грибковые поражения кожи и ее придатков выявляли гораздо реже.

5. Клиническая картина поверхностных микозов у ВИЧ-инфицированных пациентов имеет свои особенности и зависит от стадии ВИЧ-инфекции.

6. Онихомикоз стоп в 3 стадию ВИЧ-инфекции протекает с преимущественным гипертрофическим тотальным поражением ногтевых пластин, умеренной степенью гиперкератоза. При этом тотальное поражение обнаружили у 2/3 пациентов. Вовлечение в патологический процесс околоногтевых валиков было у 1/3 больных.

7. Онихомикоз стоп в 4 стадию ВИЧ-инфекции протекает с гипертрофическим тотальным поражением ногтевых пластин у подавляющего большинства пациентов. Степень гиперкератоза значительно выражена. Вовлечение в патологический процесс околоногтевых валиков происходит практически всегда.

8. Онихомикоз кистей в 3 стадию ВИЧ-инфекции протекает с гипер- и нормотрофическим типом поражения, одинаково часто встречаются дистально-латеральная и тотальная формы. Ногтевые валики не поражены.

9. Онихомикоз кистей в 4 латентную стадию протекает с преобладанием онихолитического, тотального типа поражения, нормотрофический тип не наблюдали. Довольно часто возникало поражение околоногтевых валиков. В патологический процесс вовлечены, как правило, две и более ногтевые пластины.

10. При микозе стоп и кистей преобладала эритематозно-сквамозная форма заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Потеев Н.Н. Онихомикоз. – М., 2009. – 92 с.
2. ВИЧ-инфекция и СПИД. Клинические рекомендации /Под ред. Покровского В.В. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 192 с.
3. Ramos-E-Silva M., Lima C.M., Schechtman R.C., et al. Superficial mycoses in immunodepressed patients (AIDS) // Clin. Dermatol. – 2010. – Vol. 28, №2. – P. 217-225.
4. Sud N., Shanker V., Sharma A., et al. Mucocutaneous manifestations in 150 HIV-infected Indian patients and their relationship with CD4 lymphocyte counts // Int. J. STD AIDS. – 2009. – Vol. 20, №11. – P. 771-774.
5. Surjushe A., Kamath R., Oberai C., et al. A clinical and mycological study of onychomycosis in HIV infection // Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol. – 2007. – Vol. 73, №6. – P. 397-401.
6. Tzung T.Y., Yang C.Y., Chao S.C., Lee J.Y. Cutaneous manifestations of human immunodeficiency virus infection in Taiwan // Kaohsiung J. Med. Sci. – 2004. – Vol. 20, №5. – P. 216-224.
7. Gupta A.K., Taborda P., Taborda V., et al. Epidemiology and prevalence of onychomycosis in HIV-positive individuals // Int. J. Dermatol. – 2000. – Vol. 39, №10. – P. 746-753.
8. Kumarasamy N., Solomon S., Madhivanan P., et al. Dermatologic manifestations among human immunodeficiency virus patients in south India // Int. J. Dermatol. – 2000. – Vol. 39, №3. – P. 192-195.
9. Лечение ВИЧ-инфекции 2005 /Под ред. Хоффмана К., Рокстро Ю.К., Кампа Б.С. – М., 2005. – 605 с.

Поступила в редакцию журнала 26.09.2011

Рецензент: А.П. Котрехова

ГИПОЦИНКЕМИЯ У БОЛЬНЫХ МИКОЗОМ СТОП И РЕЦИДИВИРУЮЩИМ РОЖИСТЫМ ВОСПАЛЕНИЕМ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

¹Корнишева В.Г. (профессор кафедры)*,
²Пак Е.Ю. (ассистент кафедры)

¹Кафедра дерматовенерологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия; ² кафедра дерматовенерологии Южно-Казахстанской государственной медицинской академии, Шымкент, Казахстан

© Корнишева В.Г., Пак Е.Ю., 2011

*Изучали содержание цинка в сыворотке крови у 53 больных, из которых 22 – с рецидивирующим рожистым воспалением нижних конечностей и микозом стоп, 20 – с рецидивирующим рожистым воспалением нижних конечностей. Средняя длительность заболевания рожей составила 9,2±0,6 года. У 11 больных выявили микоз стоп, основным возбудителем был *Trichophyton rubrum*.*

Содержание цинка в сыворотке крови у больных микозом стоп с рецидивами рожистого воспаления достоверно в 2 раза ниже содержания цинка в группе больных с рецидивами рожистого воспаления без микоза стоп ($p<0,01$). Снижение содержания микроэлемента нарастало с частотой рецидивирования рожи. Чем чаще рецидивировала рожа, тем ниже было содержание цинка в сыворотке крови у больных как с наличием, так и без микоза стоп ($p<0,001$).

Ключевые слова: гипоцинкемия, микоз стоп, рецидивирующее рожистое воспаление нижних конечностей, цинк

HYPOZINCEMIA IN PATIENTS WITH TINEA PEDIS AND RECURRENT ERYSIPELAS OF LOWER EXTREMITIES

¹Kornisheva V.G. (professor of the chair),
²Pak E.U. (assistant lecture of the chair)

¹Chair of dermatovenerology of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St.Petersburg, Russia; ²Chair of dermatovenerology of South-Kazakhstan State Medical Academy, Shymkent, Kazakhstan

© Kornisheva V.G., Park E.J., 2011

* Контактное лицо: Корнишева Вера Гавриловна
Тел.: (812) 303-51-47

*The zinc's content in sera of 53 patients, 22 of which - with recurrent erysipelas inflammation of the lower extremities and feet mycosis; 20 - with recurrent erysipelas inflammation of the lower limbs have been studied. The average duration of disease was erysipelas 9,2±0,6 years. In 11 patients was revealed feet mycosis, the main causative agent was *Trichophyton rubrum*.*

The zinc content in blood sera of patients with feet mycosis and erysipelas recurrent was significantly 2-fold lower of zinc content in patients with recurrent erysipelas without feet mycosis ($p < 0,01$). Reduction of trace element was growing with frequency of erysipelas recurrence. Than more often recurred erysipelas, so lower was zinc content in sera at patients both with the presence and without feet mycosis ($p < 0,001$).

Key words: hypozincemia, feet mycosis, recurrent erysipelas of lower extremities, zinc

ВВЕДЕНИЕ

Цинк является важным микроэлементом, необходимым для поддержания и нормального функционирования многих металлоферментов, в том числе и тех, которые участвуют в транскрипции и трансляции генетического материала, такие как нуклеазы с «цинковыми пальцами». В ранних научных исследованиях отмечают, что цинк может влиять на рост детей. К снижению содержания микроэлемента у них приводят частые кишечные инфекции [1]. С переводом ребенка на искусственное вскармливание, при генетически обусловленном дефиците цинка, появляются дерматит, непрерывная диарея, алопеция, снижение умственной деятельности. Эти симптомы характерны для энтеропатического акродерматита [2, 3]. Гипоцинкемия в сочетании с гиперцинкурией нередко встречается при некролитической акральной эритеме у больных, страдающих хроническим алкоголизмом [4].

При дефиците цинка Т-лимфоциты функционально неактивны, а В-лимфоциты обладают слабой способностью к продуцированию антител. В периферических лимфоидных тканях имеют место уменьшение содержания Т-лимфоцитов и регрессия периферических Т-лимфоцитов. После введения в организм цинка все эти явления исчезают. Таким образом, цинк является абсолютно необходимым микроэлементом для развития и функционирования Т-лимфоцитов [5]. Многообразные функции цинка объясняют клинический полиморфизм недостаточности этого элемента, поэтому препараты цинка используют для лечения болезней кожи, волос, ногтей, заживления ран и иммунодефицитных состояний [5].

Микоз стоп – длительно текущая хроническая инфекция, развивающаяся на фоне нарушения иммунного статуса и показателей естественной резистентности организма. При обследовании больных микозом стоп, кистей и онихомикозом выявили снижение содержания цинка в сыворотке крови. Включение данного микроэлемента в комплексную терапию пациентов ускорило сроки их выздоровления [6]. Микоз стоп является одним из основных факторов риска, способствующим развитию рецидивирующего рожистого воспаления (РРВ) нижних конечностей, характеризующегося большой длительно-

Таблица 2

Содержание цинка в сыворотке крови в исследуемых группах больных

Группы	Количество (n)	Цинк N - (0,7-1,2 мкг/мл)	
		M ± m	Минимальное значение ÷ максимальное
Основная группа	22	0,24 ± 0,02	0,1 ÷ 0,4
I группа сравнения	20	0,67 ± 0,03	0,5 ÷ 1,2
II группа сравнения	11	0,50 ± 0,04	0,2 ÷ 1,2

стью течения, склонностью к обострениям на фоне изменения реактивности организма [7].

Цель данного исследования – изучение содержания цинка в сыворотке крови у больных микозом стоп с РРВ нижних конечностей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Определение содержания цинка в крови проводили методом инверсионной вольтамперометрии на приборе АВА-3 (НПО «Буревестник», Санкт-Петербург). Забор крови осуществляли утром натощак, не позднее 10 часов утра, в пробирку с гепарином, затем центрифугировали при 1000 об./мин. в течение 15-20 минут. Надосадочную жидкость отбирали в эпиндорф и сразу использовали для определения концентрации микроэлементов или замораживали при -20 °С до проведения измерения.

Полученные клинические и лабораторные данные обрабатывали с использованием программной системы STATISTICA for Windows (версия 5.5 Лиц. №АХХR402С29502 ЗФА).

Содержание цинка в сыворотке крови изучали у 53 больных, из них 22 – с РРВ и микозом стоп (МС) (основная группа). I группу сравнения составили 20 пациентов с РРВ нижних конечностей и длительностью заболевания 9,2±0,6 года. Основным возбудителем микоза стоп был *T. rubrum*, у 44% больных – в ассоциации с *C. albicans*. Вторую группу сравнения составили 11 больных микозом стоп с продолжительностью заболевания от года до 18 лет (средняя продолжительность – 7,5±0,9 года), не имевших РРВ.

В результате проведенного исследования выявили, что содержание цинка у больных с РРВ было достоверно снижено. У пациентов основной группы (РРВ+МС) содержание этого микроэлемента было ниже нормы у всех 22 пациентов (p<0,01) (табл. 1).

Таблица 1.

Содержание цинка в сыворотке крови больных РРВ с наличием и без микоза стоп

Уровень цинка в сыворотке крови (мкг/мл)	Группы		Итого
	Основная группа n=22	I группа сравнения n=20	
Ниже нормы	22	11	33
%	100%	55%	79%
Норма (0,7-1,2 мкг/мл)	-	9	9
%	-	45%**	21%
Итого	22	20	42
%	52%	48%	100%

** (p<0,01)

В основной группе больных содержание цинка в сыворотке крови было ниже, чем в I группе сравнения (p<0,01).

Для выявления влияния наличия микотической инфекции на содержание цинка в крови провели исследование данного показателя во II группе сравнения (табл. 2).

Сравнительным анализом данных исследуемых групп показано, что содержание цинка в сыворотке крови больных основной группы было достоверно в 2,8 раза ниже содержания цинка в I группе сравнения и в 2 раза ниже – во II группе сравнения (p<0,001).

С целью выявления взаимосвязи частоты рецидивирования рожистого воспаления (РВ) с уровнем содержания цинка в сыворотках крови были проанализированы показатели содержания цинка у пациентов с РРВ (основная + I группа сравнения). Содержание цинка в сыворотках крови снижалось в зависимости от частоты рецидивирования РВ: при частоте рецидивирования РВ 1 раз в год сниженный уровень цинка регистрировали у 14% пациентов, с частотой рецидивирования РВ в 2-4 раза в год – у 29%, с частотой рецидивирования РВ 5 раз в год и более – у 36% больных (Рис.1).

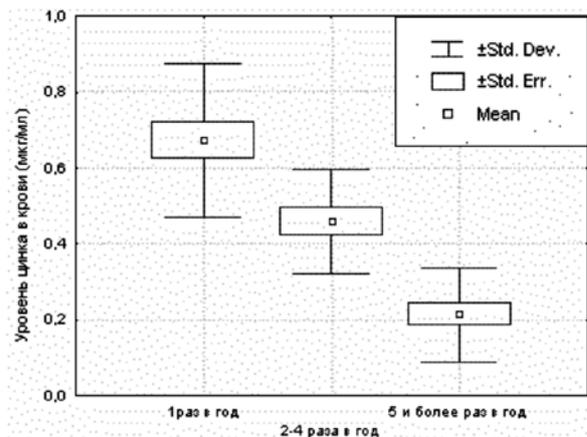


Рис. 1. Уровень цинка у больных РРВ нижних конечностей (основная + I группа сравнения) в зависимости от частоты рецидивов заболевания

Для выявления влияния наличия микотической инфекции на содержание исследуемого микроэлемента провели сравнительный анализ между показателями основной группы пациентов и группой больных с РРВ, не имевших микоз стоп, в зависимости от частоты рецидивирования РРВ (Рис. 2, табл. 3).

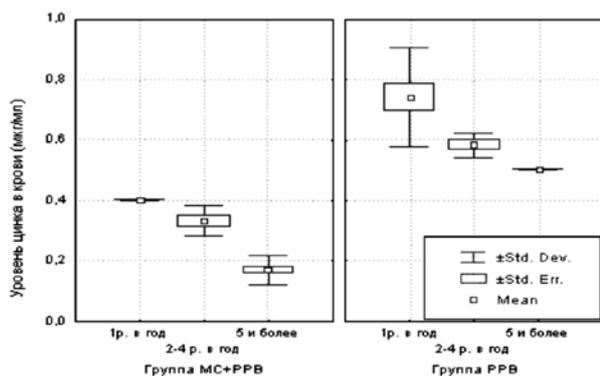


Рис. 2. Содержание цинка в сыворотке крови при различной частоте РРВ нижних конечностей в зависимости от наличия или отсутствия микоза стоп

При различной частоте рецидивирования РРВ содержание цинка у больных с микозом стоп было достоверно в 2 раза ниже, чем в группе больных без микоза.

Таблица 3

Содержание цинка в сыворотке крови пациентов обследованных групп в зависимости от частоты рецидивирования рожистого воспаления (РВ)

Частота рецидивов РВ нижних конечностей	Основная группа		I группа сравнения	
	Количество (n)	M ± m	Количество (n)	M ± m
1 раз в год	3	0,4±0	12	0,74±0,05
2-4 раз в год	6	0,33±0,02	6	0,58±0,02
5 раз в год и более	13	0,17±0,01	2	0,5±0

Со снижением уровня цинка в сыворотке крови частота рецидивирования РВ достоверно нарастала ($p < 0,001$). В основной группе больных, при разной частоте рецидивов РВ, содержание микроэлемента было достоверно в 2 раза ниже, чем в I группе сравнения.

Корреляционным анализом выявили, что с длительностью течения РРВ и микоза стоп содержание цинка в крови неуклонно снижается ($R_{\text{возр.}} = -0,58$, $R_{\text{ал. заб.}} = -0,50$). На рисунке 3 представлено корреляционное поле, иллюстрирующее взаимосвязь уровня цинка и длительности РРВ нижних конечностей и микоза стоп.

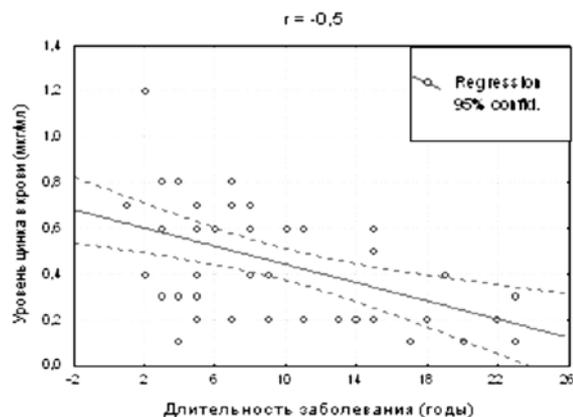


Рис. 3. Взаимосвязь уровня цинка и длительности РРВ нижних конечностей и микоза стоп

Таким образом, содержание цинка в сыворотке крови у больных микозом стоп с рецидивами рожистого воспаления достоверно в 2 раза ниже содержания цинка в группе больных с рецидивами рожистого воспаления без микоза стоп ($p < 0,01$). Частота рецидивирования РВ достоверно влияла на уровень снижения цинка, причем, чем чаще рецидивировало РВ, тем ниже было содержание цинка в сыворотке крови у больных РРВ с наличием и без микоза стоп ($p < 0,001$).

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования выявили наиболее выраженную гипоцинкемию у больных микозом стоп и РВ.

Возможные причины гипоцинкемии:

1. Длительность течения рожистого воспаления. Чем больше возраст и длительность заболевания, тем ниже содержание микроэлемента в сыворотках крови больных РВ нижних конечностей и микозом стоп ($p < 0,01$). С длительностью течения хронической инфекции происходит нарастание потери цинка с мочой.

2. Прием лекарств (например, Д-пенициллина) усиливает выделение цинка. Также может усиливать экскрецию цинка из организма пищевой краситель тертазин.

При дефиците цинка происходят изменения в процессе лимфопоэза, что приводит к снижению клеточного ответа, повышению скорости протекания инфекций и более продолжительному их течению, к атрофии тимуса, что вызывает апоптоз предшественников Т- и В-клеток и снижение антигенного ответа [5]. Эти факторы являются одними из предрасполагающих для осложнения РВ микотической инфекцией, наличие которой увеличивает гипоцинкемию у больных в 2 раза.

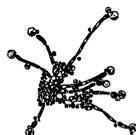
Таким образом, помимо назначения больным РРВ антибактериальных препаратов, обладающих лимфотоническим действием, десенсибилизирующей терапии, антиоксидантов, показано назначение препаратов цинка (Цинкит, Цинктерал). В комплексном лечении микоза стоп при наличии рецидивов рожистого воспаления более двух раз в год необходима следующая патогенетическая терапия: Цинкит 20 мг × 3 раза в сутки или Цинктерал 124 мг × 3 раза в сутки, курс – 1 месяц.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Brown K.H.* Commentary: Zinc and child growth// *Int. J. Epidemiol.* – 2003. – Vol. 32, №6. – P. 1103-1104.
2. *Лаврова А.Е.* Биологическая роль цинка в норме и при заболеваниях // *Рос. педиатр. журнал.* – 2000. – №3. – С. 46-54.
3. *Nitzan Y.B., Cohen A.D.* Zinc in skin pathology and care // *J. Dermatol. Treatment.* – 2006. – Vol. 17, №4 – P. 205-210.
4. *Najarian D.J., Najarian J.S., Rao B.K., Pappert A.S.* Hypozincemia and hyperzincuria associated with necrolytic acral erythema//*Int. J. Dermatol.* – 2008. – Vol. 47, №7. – P. 709-711.
5. *Оберлис Д., Харланд Б., Скальный А.* Биологическая роль макро- и микроэлементов у человека и животных / Под редакцией А.В.Скального. – СПб: Наука, 2008. – 543 с.
6. *Корнишева В.Г., Пак Е.Ю.* Роль микроэлементов цинка и меди в патогенезе микоза, обусловленного *T. rubrum* // *Успехи медицинской микологии.* – М.: Национальная Академия Микологии, 2007. – Т. IX. – С. 52-53.
7. *Пак Е.Ю.* Микоз стоп у больных с рецидивирующим рожистым воспалением нижних конечностей: Автореф. дис... канд. мед. наук. – СПб., 2009. – С. 19.

Поступила в редакцию журнала 21.11.2011

Рецензент: Ф.А. Зверькова



ОСОБЕННОСТИ ОНИХОМИКОЗОВ КИСТЕЙ/СТОП У БОЛЬНЫХ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

**Шамли Н.Б. (аспирант)*,
Разнатовский К.И. (зав. кафедрой)**

Кафедра дерматовенерологии и косметологии
Северо-Западного государственного медицинского
университета им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург,
Россия

© Шамли Н.Б., Разнатовский К.И., 2011

Обследованы 46 пациентов (27 мужчин и 19 женщин), находившихся на амбулаторном и стационарном лечении с онихомикозами кистей/стоп и метаболическим синдромом. Проведен анализ распространенности онихомикозов у больных метаболическим синдромом, а также освещены современные представления о метаболическом синдроме и клинических его проявлениях. В статье представлены основные клинические, этиологические и лабораторные особенности онихомикозов у больных с метаболическим синдромом.

Выявили основные предрасполагающие факторы у пациентов с метаболическим синдромом для развития онихомикозов кистей/стоп. Определили основные типы возбудителей, их ассоциации у больных онихомикозом кистей/стоп с метаболическим синдромом.

Ключевые слова: абдоминальное ожирение, гипертриглицеридемия, Международная Диабетическая Федерация, метаболический синдром, онихомикоз, уровень распространенности

PECULIARITIES OF HAND/ FOOT ONYCHOMYCOSES IN PATIENTS WITH METABOLIC SYNDROME

**Shamli N.B. (postgraduate student),
Raznatovsky K.I. (head of the chair)**

Chair of dermatovenereology and cosmetology of
North-Western State Medical University named after
I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

© Shamli N.B., Raznatovsky K.I., 2011

46 patients (27 men and 19 women) who were on ambulatory and hospital treatment of onychomycosis with hands/feet mycosis and the metabolic syndrome have been examined.

The analysis of the onychomycosis prevalence in patients with metabolic syndrome was held and also highlights current understanding of the metabolic syndrome and its clinical manifestations was observed. The main clinical, etiological and laboratory peculiarities of onychomycosis in patients with metabolic syndrome have been presented in the article.

We identified the main predisposing factors in patients with meta-

* Контактное лицо: Шамли Неджамеддин
Тел.: (812) 303-51-47

bolic syndrome for the development of hands/feet onychomycosis. The main types of pathogens and their association in patients with hands / feet onychomycosis and metabolic syndrome have been determined.

Key words: abdominal obesity, hypertriglyceridemia, international diabetes federation, metabolic syndrome, onychomycosis, prevalence

Микотическая инфекция кожи и ногтей была и остается одной из актуальных проблем современной клинической дерматомикологии. Исследованиями, проведенными французскими дерматологами, выявлены возбудители дерматомикоза на гладкой коже и в ногтевых пластинках у 35% взрослого населения старше 40 лет с изменениями ногтевых пластинок [1]. По данным отечественных авторов, онихомикозы в структуре дерматологической патологии составляют 24%, микозы стоп и микозы гладкой кожи – 7% [2], а распространенность микозов/онихомикозов у пациентов с выявленным метаболическим синдромом – около 55% [3]. Высокая заболеваемость у данной категории больных связана, прежде всего, с определенными возрастными изменениями физиологических свойств кожи и ее придатков, большей возможностью инфицирования, нарушениями микроциркуляции в дистальных отделах конечностей. Вероятность развития грибковой инфекции значительно выше при микроциркуляторных нарушениях. Последнее, в значительной мере, предрасполагает к изменению ногтевых пластинок по гипертрофическому типу [3]. У больных данной категории, как правило, чаще, чем у людей с отсутствием признаков метаболического синдрома, имеет место тотальное поражение ногтевых пластинок, гипер- или атрофические варианты течения онихомикозов. Известно, что в 25% случаев микотическая инфекция у больных метаболическим синдромом поражает несколько анатомических областей (кисти, стопы, ногтевые пластинки).

Эпидемиологические характеристики микозов/онихомикозов у больных с метаболическим синдромом имеют свои особенности. Так, в научной литературе все чаще используют термин «болезни прогресса и цивилизации». К предрасполагающим факторам, способствующим развитию заболевания в крупных городах, можно отнести применение лекарственных препаратов, и, прежде всего, антибиотиков, иммуносупрессантов, глюкокортикоидов и других лекарственных средств. По-видимому, все эти препараты способны влиять на естественную резистентность макроорганизма к микотической инфекции. Предрасполагающими факторами, способствующими распространению онихомикозов стоп среди городского населения, являются скученность проживания, посещение бассейна, бани, сауны, массажных и педикюрных кабинетов. Известно, что 28% больных онихомикозом стоп были заражены именно в этих местах [4]. Кроме того, около трети обследованных лиц отмечали наличие в своем окружении больных микозами стоп, как правило, среди старших членов семьи [5]. На распространенность онихомикозов значительное влияние оказывают климатические ус-

ловия. Заболевание широко распространено в странах с умеренным, тропическим и субтропическим климатом, чему способствуют высокая температура окружающей среды и высокая влажность. Предрасполагающими факторами в странах с умеренным климатом являются: длительное ношение закрытой обуви, работа на производствах с вредным воздействием на организм неблагоприятных факторов (запыленность, загазованность, высокая температура, шум, ионизирующее излучение и т.д.). Восприимчивость к грибковой инфекции у разных людей неодинакова. Весьма оригинальной в этой связи является предложенная в 1996 г. N. Zaias теория аутосомно-доминантного наследования восприимчивости к грибковой инфекции.

В последние годы число регистрируемых случаев метаболического синдрома (МС) стремительно растет [6]. Как правило, это можно объяснить малоподвижным образом жизни, ожирением, что более характерно для развитых стран.

По данным зарубежной литературы [6, 7], метаболический синдром менее распространен во Франции, чем в США или других странах Европы. Его частота варьирует в зависимости от критериев диагностики, имеющих свои особенности в разных странах. Так, согласно критериям диагностики национальной образовательной программы США (NCEP), его распространенность на северо-американском континенте составляет от 11,7% среди мужчин и 7,5% – среди женщин, а в соответствии с критериями Международной Диабетической Федерации (IDF), 26% – среди мужчин и 18,4% – среди женщин. По данным северо-американского исследования NHANES III (National Health and Nutrition Examination Survey), от 20% до 30% взрослого населения, проживающего в США, имеют признаки метаболического синдрома [6]. Согласно материалам, опубликованным в реестре MONICA (Multinational Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Diseases), основанным на статистическом анализе показателей трех групп пациентов в возрасте от 35 до 64 лет, проживающих в Лилле, Страсбурге и Тулузе, уровень распространенности МС составляет 23,5% среди мужчин и 17,9% – среди женщин и зависит от ареала и географического положения [8, 9]. В северных городах, таких как Лилль, метаболическим синдромом страдают около 27% мужского населения, в то время как в Тулузе – лишь 17,8%.

Внутри возрастных групп заболевание выявляют чаще у лиц пожилого возраста. По данным исследования, проведенного среди военнослужащих в Парижском регионе, МС отмечали у 9% пациентов в возрасте от 20 до 58 лет и у 30% – от 55 до 65 лет [10].

Доказано, что длительное существование МС у пациентов может способствовать в дальнейшем развитию сахарного диабета 2 типа и атеросклероза [9]. В научной литературе авторы подтверждают риск возникновения сердечно-сосудистых осложнений [7, 9], однако воздействие метаболического синдрома

как самостоятельного фактора, влияющего на численность популяции, по-прежнему не доказано.

Для диагностики МС достаточно 3 из 5 критериев, приведенных в таблице 1.

Таблица 1.

Определение метаболического синдрома по критериям NCEP АТР III*

Фактор риска	Показание
Абдоминальное ожирение	> 102 см – у мужчин
Объем талии	> 88 см – у женщин
Триглицериды	≥ 1,7 г/л
Липопротеиды высокой плотности (ЛПВП)	< 0,40 г/л – у мужчин < 0,50 г/л – у женщин
Артериальное давление	≥ 130/85 мм рт.ст.
Гликемия натощак	≥ 1,10 г/л

* National Cholesterol Education Program, Adult Treatment Panel III

Цель нашего исследования – изучение особенностей этиологии, патогенеза ониомикозов кистей и стоп у больных с метаболическим синдромом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы 46 пациентов (27 мужчин и 19 женщин) с микозами, ониомикозами кистей/стоп и метаболическим синдромом, проходивших стационарное и амбулаторное лечение в Городском кожно-венерологическом диспансере, а также в научно-исследовательском институте медицинской микологии им. П.Н. Кашкина. Контрольную группу составили 15 пациентов с микозом, ониомикозом кистей и стоп.



Рис. 1. Распределение больных в контрольной и исследуемой группах

Средний возраст больных в исследуемой группе составил $63,5 \pm 1,23$ лет, длительность заболевания – $14,8 \pm 0,91$ лет. Верификацию диагноза метаболического синдрома проводили согласно критериям NCEP АТР III, представленным в таблице 1. Всем больным обеих групп выполняли микроскопическое и культуральное микологическое исследования. Средняя давность заболевания составила 8,5 лет.

Из анамнеза пациентов контрольной группы было известно, что изменение формы, цвета ногтевых пластинок, а у некоторых пациентов – выраженное шелушение, наблюдали в течение 6–9 лет. Трое пациентов в прошлом получали короткие курсы (менее 2 мес.) системной антимикотической терапии с незначительным и непродолжительным улучшением течения кожного процесса в виде уменьшения шелушения кожи и уменьшения гиперкератоза ногтевых пластинок. Подавляющее число пациентов в обеих группах (82,6%)

самостоятельно или по рекомендации врача использовали наружные антифунгальные средства с положительной, но непродолжительной динамикой.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У всех обследованных лиц выявили признаки микотического поражения стоп/кистей. Основными клиническими симптомами микотической инфекции были муковидное шелушение, трещины в межпальцевых промежутках, пятна в области кистей/стоп розового цвета с четкими краями. Ногтевые пластинки кистей/стоп были утолщены, с поперечной исчерченностью. У большинства пациентов наблюдали разрушение ногтевой пластинки с дистального края, изменение цвета ногтевой пластинки – от грязно-серого до желто-бурого. У 37 пациентов в основной группе и у 8 – в контрольной группе отмечали выраженный гиперкератоз. У 24 пациентов основной группы наблюдали изменения ногтевых пластинок первых пальцев стоп не только в виде подногтевого гиперкератоза, но и в виде искривления и перекручивания по типу онихогрифоза. Поражение всех ногтевых пластинок стоп отмечали в основной группе у 32 пациентов (69,5%), в контрольной группе – у 3 (20%). У 2 больных (13,33%) в контрольной группе выявили деструкцию части ногтевых пластинок и их атрофию. Согласно критериям NСЕР АТР III, диагноз метаболического синдрома был верифицирован у всех 46 пациентов основной группы. Так, с абдоминальным ожирением мы наблюдали 32 больных (69,5%), с повышенным уровнем триглицеридов и ЛПВП – 36 (78,2%) и с повышением артериального давления – 42 (91,3%). По данным ЕСНО-исследования, у двух человек были признаки стеатоза печени.

У всех пациентов в обеих исследуемых группах диагноз микоза/ониомикоза кистей/стоп был верифицирован лабораторными методами: при микро-

скопии выявили нити мицелия; процент позитивных культуральных исследований составил 22,2%.

При культуральном исследовании у пациентов основной группы возбудителем микотической инфекции в 57% случаев был *Trichophyton rubrum*, который в 65% случаев высевали в ассоциации с *Candida* spp. У 6 больных (13%) возбудителем ониомикоза/микоза кистей/стоп был *T. mentagrophytes*, также образующий ассоциации с *Candida* spp. у 33 пациентов (73%).

По результатам культурального исследования в контрольной группе у 9 пациентов (59%) были выявлены *T. rubrum* и у одного (9%) – *T. mentagrophytes*.

ВЫВОДЫ

1. У пациентов с метаболическим синдромом и ониомикозами кистей/стоп предрасполагающими факторами для развития микозов, ониомикозов кистей/стоп являются длительность метаболического синдрома более 6 лет, повышение уровня триглицеридов крови $\geq 1,7$ ммоль/л и длительно существующая (>5 лет) артериальная гипертензия.

2. Основным возбудителем ониомикоза кистей/стоп у больных метаболическим синдромом (57%) был *T. rubrum*, образующий в 65% случаев ассоциации с *Candida* spp. и *Penicillium* spp. У 13% пациентов возбудителем ониомикоза являлся *T. mentagrophytes*, в 73% случаев образывавший ассоциации с *Candida* spp.

3. Больные с абдоминальным ожирением в три раза чаще имели тотальный ониомикоз (69,5%), в отличие от пациентов с ониомикозом без сопутствующей патологии (20%).

4. Основными клиническими проявлениями у больных метаболическим синдромом с ониомикозами были тотальный ониомикоз кистей/стоп, протекающий по гипертрофическому типу (80,4%) и онихогрифоз стоп (24%).

ЛИТЕРАТУРА

1. Anane S., Chtourou O., et al. Onychomycoses chez les sujets ages // Annales de dermatologie et de venerologie. – 2007. – Vol. 134, №10. – P. 743-747.
2. Сергеев А.Ю., Иванов О.А., Сергеев А.Ю., и др. Исследование современной эпидемиологии ониомикоза // Вестник дерматологии и венерологии. – 2002, № 3, – С. 31-35.
3. Maysen P., Freund V., et al. Toenail onychomycosis in diabetic patients: issues and management // American Journal of Clin. Dermatol. – 2009. – Vol. 10, №4. – P. 211-220.
4. Scrivener J. Onychomycoses: epidemiologie et Clinique // Revue francophone des laboratoires. – 2011. – Vol. 41, №432. – P. 35-41.
5. Белоусова Т.А. Ониомикозы: особенности современного течения и рациональные терапевтические решения // Русский медицинский журнал. – 2007. – Т. 15, №19. – С. 1383-1388.
6. Ford E.S., Giles W.H., Dietz W.H. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults. Finding from the third national health and nutrition examination survey // JAMA. – 2002. – Vol. 287, №3. – P. 356-9.
7. Alberti K.G., Zimmet P., Shaw J. IDF Epidemiology Task Force Consensus Group. The metabolic syndrome – a new worldwide definition // Lancet. – 2005. – Vol. 366, №9491. – P.1059-62.
8. Dallongeville J., Cottel D., Arveiler D., et al. The association of metabolic disorders with the metabolic syndrome is different in men and women // Ann. Nutr. Metab. – 2004. – Vol. 48, №1. – P. 43-50.
9. Bataille V., Perret B., Dallongeville J., et al. Metabolic syndrome and coronary heart disease risk in a population-based study of middle-aged men from France and Northern Ireland: A nested case-control study from the PRIME cohort // Diabetes & Metabolism. – 2006. – Vol. 32, №5. – P. 475-9.
10. Bauduceau B., Baigts F., Bordier L., et al. Epidemiology of the metabolic syndrome in 2045 French military personnel (EPI-MIL study) // Diabetes & Metabolism. – 2005. – Vol. 31, №4. – P. 353-9.

Поступила в редакцию журнала 22.11.2011

Рецензент: Т.В. Медведева

ПРИМЕНЕНИЕ СРЕДСТВ, КОРРИГИРУЮЩИХ ЛИПИДНЫЙ ОБМЕН У БОЛЬНЫХ ОНИХОМИКОЗОМ СТОП

Шамли Н.Б. (аспирант),*
Разнатовский К.И. (зав. кафедрой)

Кафедра дерматовенерологии и косметологии
Северо-Западного государственного медицинского
университета им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург,
Россия

© Шамли Н.Б., Разнатовский К.И., 2011

Показано, что с применением аторвастатина и симвастатина в составе комплексной терапии онихомикозов кистей/стоп у пациентов с метаболическим синдромом удается достичь клинического улучшения быстрее и элиминировать возбудителя раньше, чем у пациентов, не использующих статины. Так удается сократить сроки системной антифунгальной терапии.

Ключевые слова: антифунгальная терапия, дислипидемия, метаболический синдром, онихомикоз, статины

USE OF LIPID METABOLISM CORRECTING DRUGS IN PATIENTS WITH FEET ONYCHOMYCOSIS

Shamli N.B. (postgraduate student),
Raznatovsky K.I. (head of the chair)

Chair of dermatovenereology and cosmetology of
North-Western State Medical University named after I.I.
Mechnikov, St. Petersburg, Russia

© Shamli N.B., Raznatovsky K.I., 2011

It is shown that the use of atorvastatin and simvastatin in the complex treatment of hands/feet onychomycosis in patients with metabolic syndrome can achieve faster clinical improvement and can eliminate the agent, earlier than in patients not using statins. So it is possible to reduce the duration of systemic antifungal therapy.

Key words: antifungal therapy, dyslipidemia, onychomycosis, metabolic syndrome, statins

ВВЕДЕНИЕ

Онихомикоз стоп является одной из наиболее актуальных проблем современной микологии. К факторам, предрасполагающим и способствующим развитию онихомикоза стоп, относят сахарный диабет, иммунодефицит, сосудистую патологию нижних конечностей, ношение тесной обуви, старческий возраст [1, 2]. В последнее время в научной литературе опубликованы данные о метаболическом синдроме как об одном из совокупных факторов, способствующих развитию онихомикозов кистей/стоп [3].

Тактика ведения больных с онихомикозом и метаболическим синдромом предопределяет применение системной антифунгальной терапии в сочетании с препаратами для лечения артериальной гипертензии, коррекции углеводного обмена [4], тогда как влияние препаратов для коррекции дислипидемий на течение онихомикозов у лиц с метаболическим синдромом представляется недостаточно изученным.

Цель исследования – изучение влияния терапии статинами на клиническое течение онихомикозов и оптимизация системной антифунгальной терапии у больных с метаболическим синдромом и онихомикозами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

За период 2008-2011 гг. на базе НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина и городского кожно-венерологического диспансера Санкт-Петербурга было обследовано 9 пациентов с онихомикозом кистей/стоп и метаболическим синдромом. Также был проведен ретроспективный анализ медицинской документации, результатов микроскопического и культурального исследований 21 пациента с онихомикозом кистей/стоп и метаболическим синдромом. В числе 30 обследованных пациентов было 17 мужчин и 13 женщин в возрасте от 48 до 82 лет (средний возраст – $64,7 \pm 1,3$ года) с длительностью заболевания – от 1 до 62 лет.

Микотическую инфекцию диагностировали на основе данных клинических проявлений с дальнейшим микологическим исследованием (микроскопия и трехкратное культуральное исследование ногтей чешуек кистей и стоп). Верификацию диагноза метаболического синдрома проводили согласно критериям NCEP ATR III [5-7] (3 положительных симптома из 5 представленных в таблице 1).

Таблица 1.

Определение МС по критериям NCEP ATR III*

Фактор риска	Показание
Абдоминальное ожирение	> 102 см у мужчин
Объем талии	> 88 см у женщин
Триглицериды	$\geq 1,7$ г/л
Липопротеины высокой плотности	< 0,40 г/л у мужчин < 0,50 г/л у женщин
Артериальное давление	$\geq 130/85$ мм рт.ст.
Гликемия натощак	$\geq 1,10$ г/л

* критерии диагностики национальной образовательной программы США

* Контактное лицо: Шамли Неджамеддин
Тел.: (812) 303-51-47

Кроме этого, всем больным выполняли клиническое и биохимическое исследования крови (АЛТ – аланиновая трансаминаза, АСТ – аспаратамино-трансфераза, билирубин, креатинин), УЗИ органов брюшной полости, а также проводили клиническую динамическую оценку с измерением зоны краевого роста здоровой ногтевой пластинки.

Больные с онихомикозом кистей/стоп и метаболическим синдромом были разделены на две группы.

Пациенты 1-й группы (контрольной) в количестве 15 человек (9 мужчин и 6 женщин, средний возраст – 47,3±4,1 года) получали традиционное комплексное лечение, которое включало сочетанное применение системных антимикотиков с учетом показаний, противопоказаний и данных культурального исследования (тербинафин или флуконазол) в комбинации с гипотензивной терапией (ингибиторы ангиотензина-превращающего фермент – АПФ) и антагонистами адренорецепторов – АР), коррекцией углеводного обмена путем назначения препаратов сульфаниламочевин и бигуанидов.

Больные 2-й группы в количестве 15 человек (8 мужчин и 7 женщин, средний возраст – 54,1±3,5 года) получали комплексную терапию в сочетании с аторвастатином 20–40 мг 1 раз/сут. или симвастатином 20–40 мг 1 раз/сут. Пациенты принимали аторис или зоватин в вечернее время, как правило, после еды. Продолжительность лечения статинами составила от 6 до 24 месяцев и продолжается в подавляющем большинстве случаев до настоящего времени.

Сравнение результатов лечения в двух группах больных проводили с учетом клинических и лабораторных данных (исследование крови ЛПВП и ТГ, микроскопия и культуральное исследование ногтевых пластинок). Критериями эффективности в конце периода наблюдения были микологическая эффективность (отрицательные результаты микроскопии и культурального исследования ногтевых пластинок) и клиническая эффективность (отрастание не менее 5 мм ногтевой пластинки, не пораженной микозом).

Обработку данных проводили с использованием критерия Стьюдента и определением коэффициента сопряженности χ^2 .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По данным микологического исследования, у всех 100% больных был обнаружен мицелий гриба *Trichophyton rubrum*, однако при посеве рост культуры выявить не удалось у 9 пациентов (30%). Все 30 пациентов получали системный антимикотик. 19 больных принимали тербинафин в течение 24 недель, а 8 – в течение 16 недель. У 6 пациентов наблюдали повышение уровней АЛТ, АСТ в несколько раз. У 4 пациентов это состояние было расценено как транзиторное и не требовало дополнительного лечения – уровень трансаминаз динамически уменьшался на протяжении последующих 4 недель. У 2 пациентов при возрастании трансаминаз в 3 раза, по сравнению с нормой, проводили терапию гепатопротекторами

(эссенциале по 10,0 мл в/венно струйно на аутокрови №10 с дальнейшим пероральным приемом препарата – 2 капсулы 2 раза в день во время еды в течение 3 месяцев), без прерывания системного антифунгального лечения. После терапии, направленной на коррекцию гепатобиллиарной системы, мы наблюдали постепенное снижение уровня трансаминаз до нормальных показателей.

Флуконазол принимали 3 пациента в течение 24 недель с положительной клинической динамикой. Однако, на основе данных катамнестического анализа, у 1 из пациентов через 3–5 месяцев после излечения, которое наблюдали через 6 месяцев от начала применения флуконазола, развилась реинфекция онихомикоза. У 1 пациентки на фоне приема сульфаниламочевин выявили стойкое повышение глюкозы в периферической крови. Для коррекции углеводного обмена назначали инсулин в начальной дозе 0,3 ЕД/кг массы тела с постепенным увеличением дозы до 0,8 ЕД/кг, с дальнейшим достижением удовлетворительной компенсации углеводного обмена.

Наружную терапию проводили 3 больным с признаками микотического поражения кожи стоп (отрубевидное шелушение в области свода стопы и трещины в межпальцевых промежутках), применяя различные антифунгальные мази и кремы: микозорал, батрафен, экзодерил, ламизил, мифунгар, низорал. Топические антимикотические средства больные применяли в течение всего периода лечения с периодичностью 2–3 раза в неделю, препарат сменяли каждые 3–5 недель.

В контрольной и исследуемой группах микологическая и клиническая эффективность от проводимой системной и местной антифунгальной терапии составила 100%. Однако в группе пациентов, принимающих статины, отсутствие мицелия в контрольных исследованиях при микроскопии нативного препарата, клиническое улучшение наблюдали раньше, по сравнению с контрольной группой. Результаты сравнительной эффективности лечения системным антимикотиком приведены в таблице 2.

Таблица 2.

Результаты системной антифунгальной терапии у больных онихомикозом с метаболическим синдромом

Эффективность лечения	1-я группа	2-я группа
Микологическая	16–18 нед.	4–16 нед.
Клиническая	24–30 нед.	20–24 нед.

ВЫВОДЫ

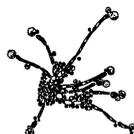
1. Применение статинов в составе комплексной терапии у больных с онихомикозами стоп и метаболическим синдромом сопровождается сокращением сроков приема системного антимикотика.
2. Сочетание статинов и системных антимикотиков в лечении онихомикозов у пациентов с метаболическим синдромом способствует более быстрому клиническому улучшению, в отличие от лечения онихомикозов без коррекции дислипидемий у лиц с метаболическим синдромом.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Yannis Scrivener J.* Onychomycoses: épidémiologie et clinique //RFL – Revue francophone des laboratoires – 2011. – Vol. 41, № 432. – P. 33-41.
2. *Chabasse D., Baran R., Feuilhade de Chauvin M.* Les onychomycoses I – Epidemiologie- Etiologie //J. de Mycologie Medicale. – 2000. – Vol. 10, №4. – P. 177.
3. *Котрехова Л. П.* Сахарный диабет и онихомикоз стоп: этиология, клиника, лечение // Клиническая дерматология и венерология. – 2008. – № 5. – С. 81-85.
4. *Корнишева В.Г., Белова С.Г.* Мазь «Микозорал» в лечении микозов стоп и кистей при сахарном диабете второго типа // Проблемы медицинской микологии. – 2011. – Vol. 13, №2. – С. 39-41.
5. *Bonnet E, Laville M.* Le syndrome metabolique: Une entite a haut risque metabolique et cardiovasculaire //Cahiers de nutrition et de dietetique. – 2004. – Vol. 39, №4. – P. 285-289.
6. *Tisson E.* Syndrome métabolique: diagnostic, conséquences cardiaques et vasculaires // EMC-Cardiologie-Angeiologie. – 2005. – Vol. 2, №4. – P. 423-430.
7. *Andreelli F, Ziegler O.* Comment prendre en charge le syndrome metabolique? // Annales d'endocrinologie – 2005. – Vol. 66, №2, Cahier. 3. – P. 2S36-2S45.

Поступила в редакцию журнала 22.11.2011

Рецензент: А.М. Леина



СПОНТАННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ *ASPERGILLUS NIGER* V.TIEGH ПРИ МНОГОСТУПЕНЧАТОЙ СЕЛЕКЦИИ ШТАММОВ – ПРОДУЦЕНТОВ АЛЛЕРГЕНОВ

Журавлева Н.П. (в.н.с.)*, Васильева Н.В. (директор института), Чилина Г.А. (зав. лаб.), Соловьева Г.И. (вед.н.с.)

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

© Коллектив авторов, 2011

Aspergillus niger может быть причиной аллергических заболеваний органов дыхания человека, в том числе аллергического бронхолегочного аспергиллеза и бронхиальной астмы. В связи с этим важной задачей является получение специфических высокоактивных и стандартных аллергенов для аллергодиагностики аспергиллеза.

Проведены исследования спонтанной изменчивости популяций селекционированных ранее штаммов *A. niger* при ступенчатом отборе по морфологии колоний и интенсивности прорастания конидий, в сравнении с исходным штаммом, выделенным от больного.

У всех штаммов *A. niger* наблюдали большой размах изменчивости по свойству прорастания конидий, но с каждой ступенью селекции уменьшался коэффициент вариации и, следовательно, имела место стабилизация клонов в популяциях.

Средняя арифметическая активность прорастания конидий в популяции селекционированных штаммов возросла на 3 этапе в 1,4 раза по сравнению с исходным штаммом

В результате селекционирован ряд штаммов, типичных по маркеру морфологии колоний и активных по маркеру прорастания конидий от 80 до 88%, превышающий исходный штамм, в среднем, на 50%.

Отобранные штаммы стабильны по селекционированным свойствам в ряде генераций и могут быть использованы при создании микоаллергодиагностикомов.

Ключевые слова: аллергопродуцент, активность прорастания конидий, *Aspergillus niger*, селекция, спонтанная изменчивость

THE SPONTANEOUS VARIABILITY OF POPULATIONS OF *ASPERGILLUS NIGER* V.TIEGH IN MULTISTEP SELECTION OF STRAINS – ALLERGENS PRODUCENTS

Zhuravleva N.P. (leading scientific researcher), Vasilyeva N.V. (director of institute), Chilina G.A. (head of the laboratory), Solovjova G.I. (leading scientific researcher)

Kashkin Research Institute of Medical Mycology of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

© Collective of authors, 2011

Aspergillus niger can cause allergic diseases of human respiratory organs, including allergic bronchopulmonary aspergillosis and bronchial asthma. Therefore, the receiving of specific highly active and standard allergens for aspergillosis allergodiagnosics is an important problem.

Researches on spontaneous variability of populations of selected previously *A. niger* strains have been carried out. The study was fulfilled by step-by-step selection on morphology of colonies and intensity of conidium germination, in comparison with the initial strain, isolated from the patient.

All strains of *A. niger* have shown the wide range of variability on property of conidium germination, but the variation coefficient decreased with each step of selection, and consequently took place stabilization of clones in populations.

The average activity of conidium germination has increased in population of the selected strains at third stage in 1,4 times (in comparison with an initial strain).

As a result the set of the strains typical on colonies' morphology and with the conidium germination activity from 80 to 88% have been selected. The above-mentioned strains have exceeded an initial strain on conidium germination activity on 50% on the average.

The selected strains are stable on the selected properties in a number of generations and may be used for creation for mycoallergens.

Key words: allergenoproducent, *Aspergillus niger*, selection, spontaneous variability, spore germination's activity.

ВВЕДЕНИЕ

В связи с изменчивостью микромицетов необходима периодическая поддерживающая селекция как по морфологическим свойствам, так и по другим интересующим нас маркерам. Отбор позволяет поддерживать генетическую однородность популяции, что важно для качества грибных культур [1, 2].

Из клинической практики известно, что *Aspergillus* spp. могут быть причиной поражения органов дыхания и развития таких аллергических заболеваний [3], как риносинуситы [4], бронхолегочный аспергиллез [5], бронхиальная астма [6].

Изучение изменчивости популяций микромицетов как этиологических агентов аллергических заболеваний необходимо для диагностики и профилак-

* Контактное лицо: Журавлева Нина Петровна, Тел.: (812) 303-51-40

тики микогенной сенсбилизации. Своеобразие клинических проявлений соответствующих заболеваний может зависеть от смены фенотипов видов грибов [7]. В связи с этой проблемой актуально иметь высокоактивные, стандартные и специфические микоаллергодиагностикумы из аспергиллов.

Задача нашего исследования заключалась в изучении спонтанной изменчивости клонов в популяциях исходного штамма (ИШ) и селекционированных штаммов (СШ) *A. niger* при многоступенчатой селекции по маркерам типичности морфологии колоний (МК) и высокой активности прорастания конидий (ПК).

Цель исследования – селекция штаммов из популяций *A. niger*, типичных по МК, интенсифицированных по ПК, стандартных по маркерным свойствам и, соответственно, рентабельных для дальнейшей разработки микоаллергодиагностикумов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования – 3 штамма *A. niger*. Генезис: исходный штамм (ИШ) РКПГ-967, выделенный из промывных вод бронхов от больного аллергическим бронхолегочным аспергиллезом, селекционированные (СШ) – при многоступенчатой селекции и изучении спонтанной изменчивости популяции штаммов: 967/10, 967/10/7.

Отбор клонов из моноспорового посева популяций штаммов производили методом прикладной генетики и селекции [8]. С агаризованной среды Чапека Докса выделяли по 500 колоний каждого штамма и изучали их изменчивость по маркеру типичности МК. Затем типичные по МК изучали по маркеру интенсивности ПК. Для этого колонии выращивали на жидкой среде Сабуро с 4% глюкозы с добавлением дрожжевого экстракта и постоянным встряхиванием пробирок на шуттель-аппарате в течение 10 часов при 27 °С. Для оценки активности ПК просматривали, в среднем, 100 клонов каждого штамма. Количество ПК подсчитывали в процентах к общему числу конидий в 10 полях зрения микроскопа МБИ-15. С целью отбора наиболее активных вариантов по интенсивности ПК провели статистическую обработку данных, используя способ сумм [9]. Селекционированные активные варианты по ПК проверяли на стабильность в ряде генераций.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При исследовании ИШ и СШ по маркеру МК выявили однородность популяций по макроморфологическому типу колоний – гомогенные популяции были представлены одним типом колоний. Колонии до 3 см в диаметре, черные. Субстратный мицелий компактный, светло-желтый, погруженный. Конидиальные головки черные 700 мкм в диаметре, конидиеносцы варьируют до 3 мм высотой, неокрашенные; конидии шаровидные 4-5 мкм в диаметре, коричневые, шероховатые; реверзум желтый.

Используя критерии варибельности при изуче-

нии спонтанной изменчивости клонов в популяциях ИШ и СШ по маркеру ПК, выявили у всех трех испытуемых штаммов большой размах изменчивости по этому свойству от 0 до 80 и 100% (Рис.).

С каждой ступенью селекции модальный класс по ПК у СШ, по сравнению с ИШ, сдвинут в интервал высокоактивных вариантов (Рис.).

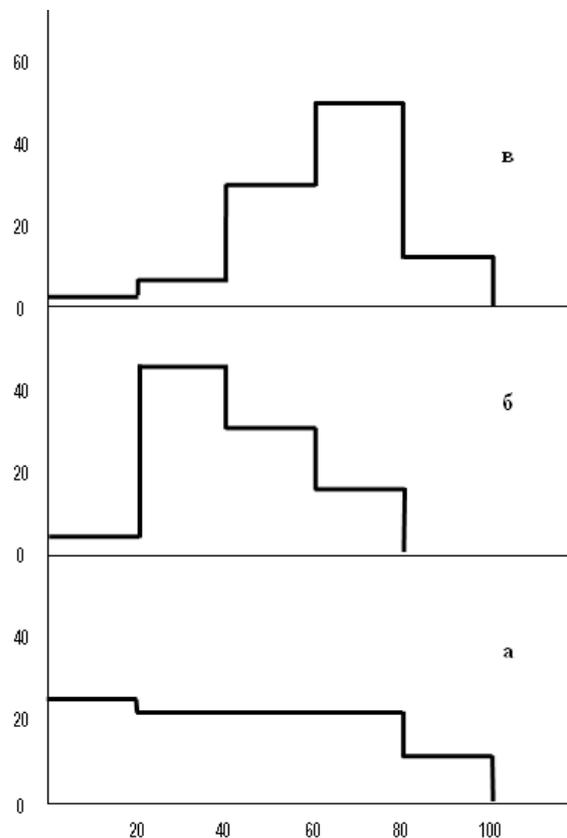


Рис. Спонтанная изменчивость активности прорастания конидий в популяциях исходного и селекционированных штаммов *A. niger* при многоступенчатой селекции.

По оси абсцисс – активность прорастания конидий, %, по оси ординат – количество вариантов с проросшими конидиями, %.

а) исходный штамм РКПГ-967 – I этап селекции; б) селекционированный штамм 967/10 – II этап селекции; в) селекционированный штамм 967/10/7 – III этап селекции.

Так, у ИШ – от 0-20% (1-го этапа), у СШ (I-го этапа) – от 20 до 40%, у СШ (II-го этапа) – от 60 до 80%. Кроме того, на 3-ем этапе селекции в популяции СШ увеличилась частота встречаемости высокоактивных вариантов до 49%, в сравнении с ИШ – 25% (Рис.).

С применением генетико-селекционных методов средняя арифметическая активность ПК в популяции СШ увеличилась, в сравнении с ИШ, в 1,4 раза – от 45 до 64%; с каждой ступенью селекции значительно уменьшался коэффициент изменчивости ПК от 50,5 – у ИШ до 28,7 – у СШ; этим подтверждается стабилизация клонов в популяции по данному маркеру у СШ в сравнении с ИШ. В результате многоступенчатой селекции *A. niger* выделены 4 высокоактивных штамма по маркеру ПК от 80 до 88%.

Новые СШ стабильны как по маркерам МК, так и по высокой активности ПК в ряде генераций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате изучения естественной изменчивости при ступенчатой селекции штаммов *A. niger* выявлен большой потенциал жизнеспособности конидий, интенсивность прорастания которых возрастала с каждой ступенью селекции. Выделены 4 новых штамма с активностью ПК от 80 до 88%, пре-

вышающие среднюю арифметическую ИШ на 35-43%. Штаммы стабильны по маркерам типичности МК и по высокой активности ПК в ряде генераций и могут быть использованы при создании тест-систем для аллергодиагностики. Штаммы включены в банк культур микромицетов-продуцентов аллергенов и хранятся в институте медицинской микологии им. П.Н. Кашкина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Елинов Н.П. Основы биотехнологии. – СПб., 1995. – 600 с.
2. Елинов Н.П. Первичные и вторичные метаболиты грибов в связи с некоторыми перспективами развития промышленной микробиологии // Микология и фитопатология. – 1990. – Т. 14, вып.4. – С. 316-373.
3. Tashiro T., Izumikawa K., Tashiro M., et al. Diagnostic significance of *Aspergillus* species isolated from respiratory samples in an adult pneumology ward // Med. Mycol. – 2011. – Vol. 49, №6. – P. 581-7.
4. Zhao Z., Li L., Wan Z., et al. Simultaneous detection and identification of *Aspergillus* and *Mucorales* species in tissues collected from patients with fungal rhinosinusitis // J. Clin. Microbiol. – 2011. – Vol. 49, №4. – P. 1501-7.
5. Knutsen A.P. Immunopathology and immunogenetics of allergic bronchopulmonary aspergillosis // J. Allergy (Cairo). – 2011: 785983 Epub.
6. Menzies D., Holmes L., McCumesky G., et al. *Aspergillus* sensitization is associated with airflow limitation and bronchiectasis in severe asthma // Allergy. – 2011. – Vol. 66, №5. – P. 679-85.
7. Soll D.B., Stafbell M., Gangtimm, et al. Multiply *Candida* strains in the course of a single system infection // J. Clin. Microbiol. – 1988. – Vol. 26, №8. – P. 1448-1459.
8. Захаров И.А., Квитко К.В. Генетика микроорганизмов. – Л., 1967. – С. 92-96.
9. Плохинский Н.А. Биометрия. – Новосибирск, 1970.

Поступила в редакцию журнала 14.11.2011

Рецензенты: Н.П. Елинов, А.Г. Полищук



ГРИБОСТОЙКОСТЬ НЕКОТОРЫХ СТРОИТЕЛЬНЫХ МАТЕРИАЛОВ. СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

**Павлова И.Э. (н.с.)*, Маметьева А.А. (н.с.),
Чилина Г.А. (зав. лаб.), Степанова А.А.
(вед.н.с.)**

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина
Северо-Западного государственного медицинского
университета им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург,
Россия

© Коллектив авторов, 2011

Исследовали возможность повышения грибостойкости отдельных строительных материалов. Показано, что наименьшей грибостойкостью обладают гипсокартон и гипсоволокнистый лист (ГВЛ). Обработка материалов биоцидами в условиях повышенной влажности эффективна в течение ограниченного времени (112 суток).

Ключевые слова: гипсокартон, грибостойкость, микромицеты, стройматериалы, *Chaetomium* sp.

FUNGUS-FIRWINESS OF SOME BUILDING MATERIALS. COMPARATIVE INVESTIGATION

**Pavlova I.E. (scientific researcher),
Mametyeva A.A. (scientific researcher),
Chilina G.A. (head of the laboratory),
Stepanova A.A. (leading scientific
researcher)**

Kashkin Research Institute of Medical Mycology of
North-Western State Medical University named after I.I.
Mechnikov, St.Petersburg, Russia

© Collective of authors, 2011

Mould resistance of different building materials have been studied. Possibility of mould resistance increasing with biocide treatment was evaluated. Gypsum boards were most susceptible to mould growth. Standard biocide treatment in conditions of high humidity was effective during restricted period (112 days).

Key words: building materials, *Chaetomium* sp., gypsum board, micromycetes, mould resistance

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время всё большее внимание уделяют появлению биологических повреждений в различных помещениях. Это связано не только с разрушением строительных материалов, но и с возникновением заболеваний, вызываемых, в частности, микроскопическими грибами.

Причинами развития микроскопических грибов на строительных материалах являются: 1) повышенная влажность (протечки, неисправности санитарно-технического оборудования, нарушения целостности кровли, повреждённая гидроизоляция фундамента, конденсация водяных паров на стенах и оконных рамах); 2) использование негрибостойких строительных материалов. Далеко не всегда уделяют внимание второй причине. В данной статье приведены результаты сравнительного изучения грибостойкости образцов из ряда строительных материалов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовали образцы строительных материалов: гипсокартон (гипрок), гипсоволокнистый лист (ГВЛ), газобетон, кирпич силикатный, кирпич поризованный, деревянные бруски, керамзитобетон, сталь оцинкованную, сталь окрашенную.

Методы исследования различных материалов на грибостойкость изложены в следующих нормативных документах: ГОСТ 9.048-89 [1], МУ 2.1.674-97 [2], ГОСТ 9.802-84 [3], ГОСТ 15158-78 [4], ГОСТ 9.801-82 [5], ГОСТ 9.049-91 [6], ГОСТ 28206-89 [7], ГОСТ 9.053 -75 [8], ГОСТ 6659-83 [9], ГОСТ 12.4.152-85 [10], РВСН 20-01-2006 [11]. Во всех приведённых документах для определения грибостойкости используют суспензию спор грибов с концентрацией 1 000 000 клеток в 1 мл. Заражённые смешанной суспензией грибов образцы помещают в условия повышенной влажности и инкубируют при 28 °С.

В основе данного исследования применяли методику, указанную в ГОСТ 9.048-89, МУ 2.1.674-97, но при этом использовали другой, модифицированный нами, набор тест-культур грибов, более полно отражающий спектр микромицетов – биодеструкторов стройматериалов, исходя из многочисленных данных, полученных в ходе собственных исследований. Кроме того, инкубировали заражённые образцы в течение более длительного периода времени.

Тест-культуры микромицетов отбирали из Российской коллекции патогенных грибов (РКПГ):

1. F-1249/880-2 – *Aspergillus niger*
2. F-1247/ 1094 – *Aspergillus flavus*
3. F-1287 – *Aspergillus versicolor*
4. F-1253/8 – *Aureobasidium pullulans*
5. F-1350 – *Penicillium chrysogenum*
6. F-1048/IHEM -1164 – *Rhizopus oryzae*
7. F-976 – *Cladosporium herbarum*
8. F-1349 – *Trichoderma citrinoviride*
9. F-1193 – *Chaetomium globosum*
10. F-1260 – *Stachybotrys chartarum*

* Контактное лицо: Павлова Ирина Эдуардовна
Тел.: (812) 303-51-40

11. F-887/618 – *Alternaria alternata*

Готовили суспензию спор с концентрацией $1 \cdot 10^6 \pm 2 \cdot 10^6$ клеток в 1 мл для каждого гриба отдельно. Концентрацию спор проверяли с помощью камеры Горяева. В качестве контроля суспензию каждого вида засеивали на агаризованную среду Сабуро в чашках Петри и инкубировали 7 суток при 28 °С. Оставшиеся суспензии смешивали в равных объёмах и использовали для заражения образцов.

Фрагменты образцов строительных материалов размером 5x5x5 см (в 3 повторностях) очищали от внешних загрязнений. Заражение образцов проводили смешанной суспензией из 11 видов плесневых грибов. После заражения образцы помещали в стеклянные эксикаторы, обеспечивающие подачу воздуха и поддержание постоянной влажности 90%, и выдерживали в течение 42 суток при 28 °С.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты учитывали на 42 день инкубации. При этом оценку роста грибов на образцах строительных материалов производили по шестибалльной шкале (0÷5) в соответствии с принятыми ГОСТ 9.048-89 характеристиками баллов: 5 баллов присваивается образцу с визуально определяемым развитием грибов на площади более 25% поверхности, а 0 баллов – при отсутствии развития грибов, видимого под микроскопом.

При визуальном осмотре образцов через 42 дня инкубации в некоторых пробах обнаружили признаки роста грибов. На всех пробах газобетона и на 2 пробах силикатного кирпича выявили видимый рост грибов в виде налёта серого цвета. На одной пробе поризованного кирпича наблюдали видимый рост грибов в виде единичных серых точек. Все образцы дерева имели налёт тёмно-серого цвета. Образцы керамзитобетона внешне не изменились.

На деревянных брусках под стереомикроскопом Zeiss SteREO Discovery V 12 отмечали рост микромицетов: споры, фрагменты мицелия, конидиальные структуры *Aspergillus niger*, что соответствовало баллам 2÷3 (Рис. 1).

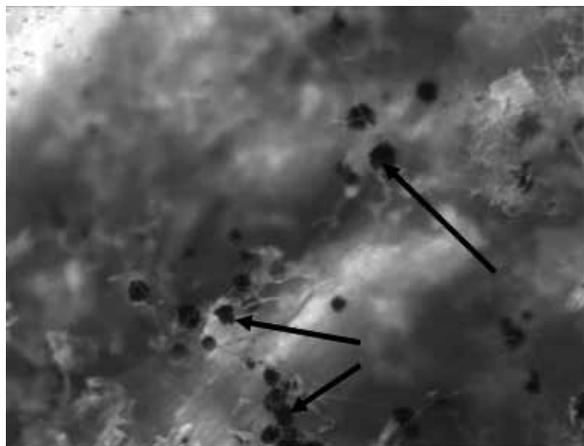


Рис. 1. Очаги роста грибов (*A. niger*, головки) на образце деревянного бруса после инкубации 42 дня. Увеличение 100 х. Фото Босака И.А.

На всех пробах газобетона, на 2 пробах силикатного кирпича, на 2 пробах поризованного кирпича обнаружили единичные признаки роста микромицетов: споры и небольшое количество фрагментов мицелия.

В одном образце керамзитобетона с помощью стереомикроскопа выявили рост микромицетов, что соответствовало баллу 1 (Рис. 2). На двух других образцах роста микромицетов не наблюдали.

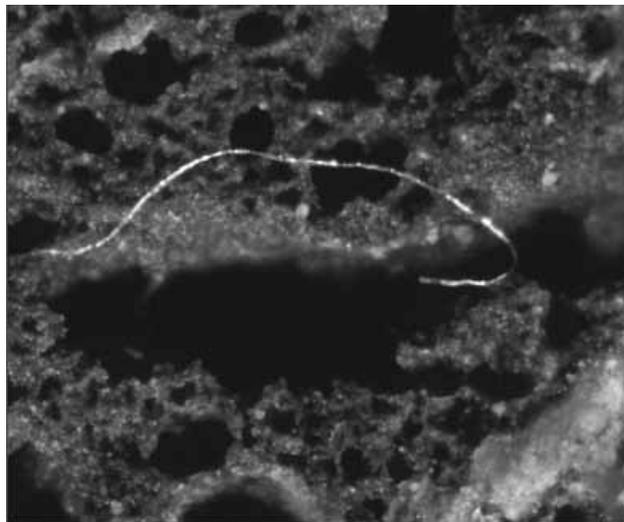


Рис. 2. Единичная нить мицелия микроскопического гриба на образце керамзитобетона после срока инкубации 42 дня. Увеличение 100 х. Фото Босака И.А.

При исследовании грибостойкости оцинкованной стали установили, что она обладает более высокой грибостойкостью, чем окрашенная сталь.

Строительные материалы, по результатам исследования, в порядке возрастания грибостойкости можно расположить следующим образом (Рис. 3): 1. Гипрок и ГВЛ (гипсоволокнистый лист); 2. Деревянный брус; 3. Кирпич поризованный; 4. Газобетон; 5. Керамзитобетон; 6. Сталь оцинкованная; 7. Сталь окрашенная.

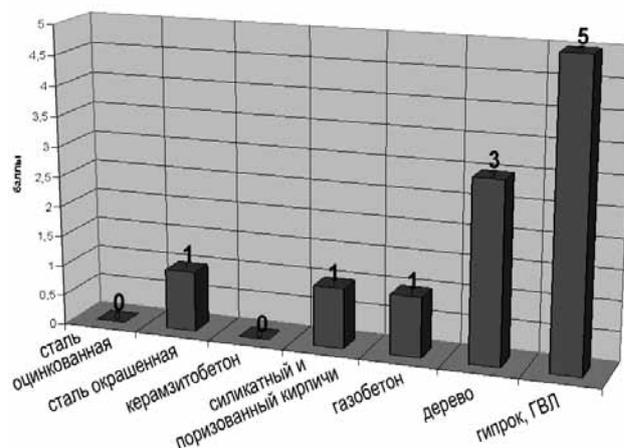


Рис. 3. Оценка грибостойкости материалов

По результатам исследования самыми негрибостойкими материалами оказались ГВЛ и гипрок – 5 баллов (Рис. 4).

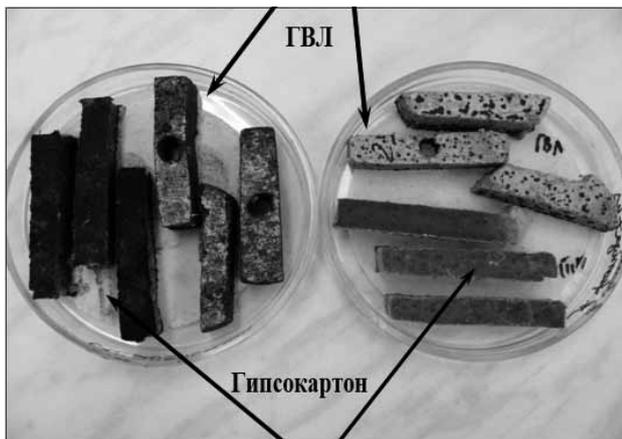


Рис. 4. Образцы ГВЛ и гипсокартона после 1 месяца инкубации. Рост микромицетов в виде точек и налетов темного цвета. Фото Босака И.А.

После инкубирования на ГВЛ и гипсокартоне видны пятна тёмного цвета и налёт, при этом основным микромицетом – биодеструктором являлся *Chaetomium* sp. – целлюлолитический гриб, способный вырабатывать микотоксины (хетоглобины А и С) и вызывать у людей инвазивные микозы, микоаллергозы и микотоксикозы [12]. Гриб включён в IV группу патогенности микроорганизмов [13]. На рисунках 5 и 6 приведены микрофотографии плодовых тел и спор *Chaetomium* spp., выросшего на ГВЛ, полученные с помощью сканирующего электронного микроскопа.

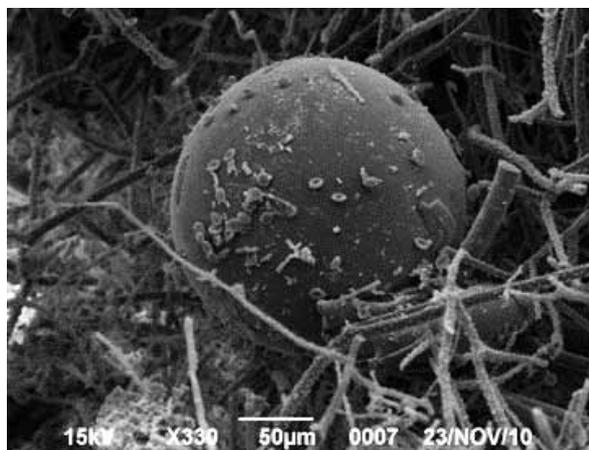
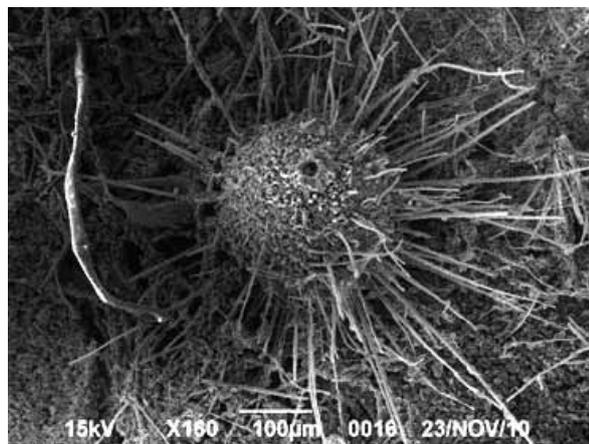


Рис. 5. Перитеции гриба из рода *Chaetomium* на ГВЛ

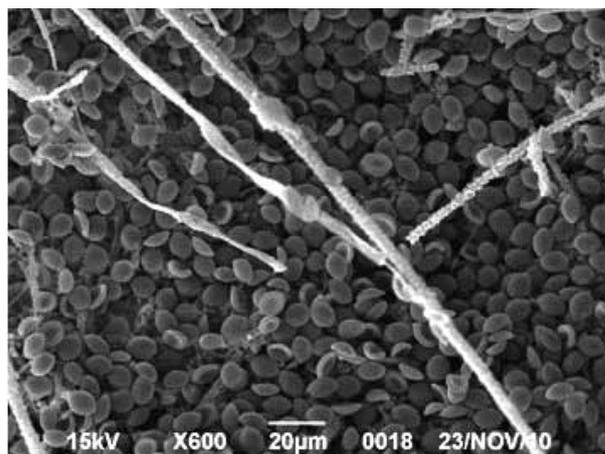
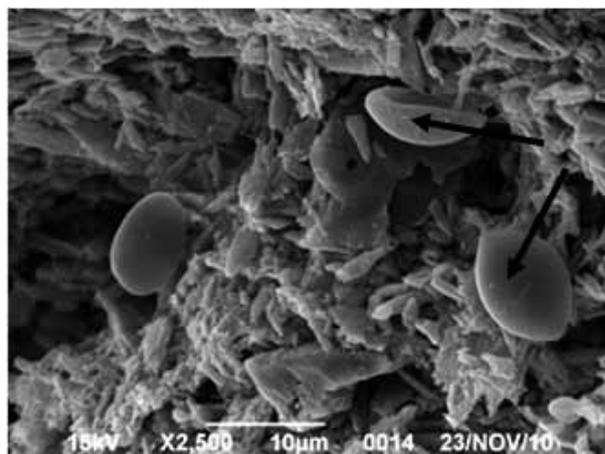


Рис. 6. Споры гриба из рода *Chaetomium* на ГВЛ

В рамках данного исследования были предприняты попытки повысить грибостойкость ГВЛ и гипрока. Чистые фрагменты этих стройматериалов (без биоповреждений) поверхностно обрабатывали биоцидом «Neomid bio ремонт». Через 112 дней инкубации обработка оказалась неэффективной – все образцы были покрыты ростом микромицетов, который виден невооружённым глазом (Рис. 7).

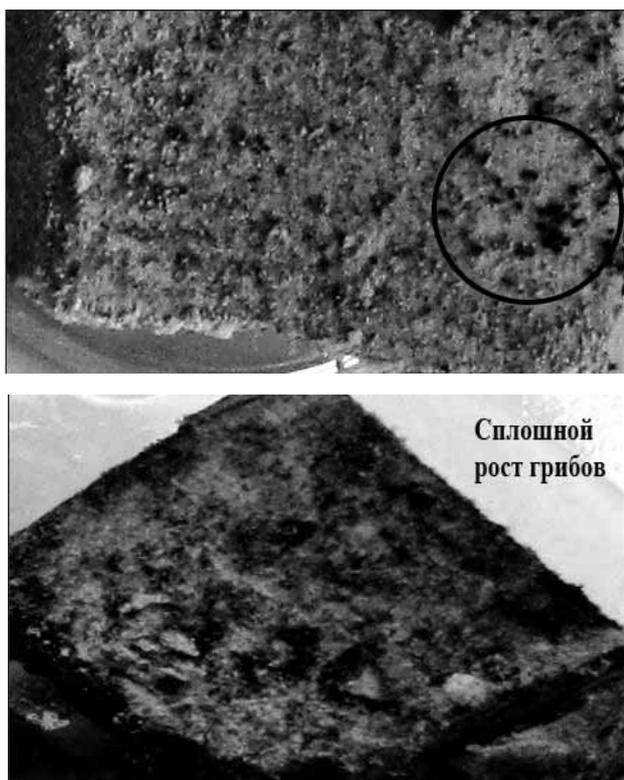
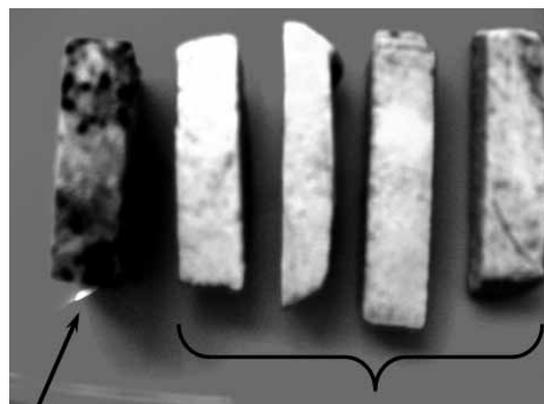


Рис. 7. Образцы ГВЛ после обработки биоцидом через 112 дней инкубации

Установили, что при закреплении биоцидной обработки новых ГВЛ средством гидроксиэтерифицированные кустовые остатки силоксанов – ГЭКОС (кремний органическое соединение) они приобрета-

ют свойство грибостойкости, которое сохраняется в течение 10 месяцев в условиях повышенной влажности (Рис. 8).



ГВЛ без обработки (рост грибов в виде темного налета) Обработанные биоцидами ГВЛ с последующим нанесением средства «ГЭКОС» (отсутствие роста)

Рис. 8. Грибостойкость обработанных и необработанных образцов ГВЛ

ВЫВОДЫ

1. Строительные материалы различаются по грибостойкости. Самые негрибостойкие из изученных материалов – гипрок и ГВЛ. Наиболее устойчивыми к воздействию плесневых грибов оказались образцы из керамзитобетона и стали оцинкованной.

2. Свойство грибостойкости необходимо учитывать при разработке нормативных документов на стройматериалы.

ЛИТЕРАТУРА

1. ГОСТ 9.048-89. Изделия технические. Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов.
2. МУ 2.1.674-97. Санитарно-гигиеническая оценка стройматериалов с добавлением промотходов.
3. ГОСТ 9.802-84. Ткани и изделия из натуральных, искусственных, синтетических волокон и их смесей. Метод испытания на грибостойкость.
4. ГОСТ 15158-78. Бумага и картон с защитной обработкой для упаковывания продукции и изготовления деталей технических изделий для районов с тропическим климатом.
5. ГОСТ 9.801-82. Бумага. Методы определения грибостойкости.
6. ГОСТ 9.049-91. Материалы полимерные и их компоненты. Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов.
7. ГОСТ 28206-89. Испытания. Испытание J и руководство: грибостойкость.
8. ГОСТ 9.053-75. Материалы неметаллические и изделия с их применением. Метод испытания на микробиологическую стойкость в природных условиях в атмосфере.
9. ГОСТ 6659-83. Картон обивочный водостойкий.
10. ГОСТ 12.4.152-85. Кожа искусственная. Методы определения грибостойкости.
11. РВСН 20-01-2006 СПб. Защита строительных конструкций, зданий и сооружений от агрессивных химических и биологических воздействий окружающей среды.
12. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов. – М.: Мир. – 2001. – 468 с.
13. Санитарно-эпидемиологические правила СП 1.3.2322-08, Приложение № 1, утверждённые Постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28 января 2008 г. № 4.

Поступила в редакцию журнала 22.11.2011

Рецензент: И.А. Босак



ПРОТИВОГРИБКОВАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИРОДНОЙ АССОЦИАЦИИ «ТИБЕТСКИЙ РИС»

Тихомирова О.М. (доцент кафедры)*, Иванова Е.А. (дипломант)

ГБОУ ВПО Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия, Санкт-Петербург, Россия

© Тихомирова О.М., Иванова Е.А., 2011

*Проведен скрининг микроорганизмов природной ассоциации «Тибетский рис» для оценки их способности ингибировать рост *Candida albicans*. Из состава ассоциации были выделены 30 штаммов молочнокислых палочковидных и кокковидных бактерий, 1 штамм уксуснокислых бактерий и 3 штамма дрожжей, проявляющих антагонизм в отношении тест-культуры. Из числа молочнокислых бактерий выбраны 8 штаммов, перспективных для дальнейшего изучения с целью получения на их основе пробиотических продуктов с противогрибковым действием.*

Ключевые слова: дрожжи, *Candida albicans*, молочнокислые бактерии, противогрибковая активность, «Тибетский рис», уксуснокислые бактерии, ферментированные продукты

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF MICROORGANISMS FROM NATURAL ASSOCIATION «TIBETAN RICE»

Tikhomirova O.M. (assistant professor of chair), Ivanova E.A. (graduated student)

SBEI HPE Saint-Petersburg Chemical-Pharmaceutical Academy, Saint-Petersburg, Russia

копирайт?????????

*Microorganisms of natural association «Tibetan rice» was screened for their ability to inhibit growth of *Candida albicans*. 30 strains of lactic acid bacteria (rods and cocci), 1 strain of acetic acid bacteria and 3 yeast strains with antagonistic activity were isolated from association. 8 strains of lactic acid bacteria were selected as perspective for further investigations as potential probiotics with antifungal activity.*

Key words: acetic acid bacteria, antifungal activity, *Candida albicans*, fermented products, lactic acid bacteria, «Tibetan rice», yeasts

ВВЕДЕНИЕ

Противогрибковая терапия многих часто встречающихся микозов, даже при наличии широкого спектра химиотерапевтических препаратов, в ряде случаев оказывается неэффективной. Этому способствует возрастающая распространенность микроорганизмов, устойчивых к традиционно назначаемым препаратам. В связи с этим становится актуальной разработка средств, одновременно оказывающих ингибирующее действие на возбудителей и иммуномодулирующее действие – на макроорганизм. Одним из возможных подходов к решению проблемы повышения эффективности антимикотической терапии является использование пробиотиков, полученных на основе непатогенных микроорганизмов, способствующих восстановлению нормобиоты тела человека и предотвращающих колонизацию поверхностей посторонними микроорганизмами [1].

Потенциальным источником пробиотических микроорганизмов, обладающих высокой антагонистической активностью, являются традиционные ферментированные кисломолочные продукты (кефир, кумыс, айран и другие). В настоящее время в научной литературе имеются данные, подтверждающие эффективность таких напитков при использовании в комплексной терапии различных заболеваний, в том числе микозов [2].

Молочнокислые бактерии (МКБ), уксуснокислые бактерии (УКБ) и дрожжи, входящие в состав микробных ассоциаций при получении ферментированных продуктов, наряду с некоторыми другими микроорганизмами – сапробами, являются перспективными ингибиторами роста дрожжевых и мицелиальных грибов. По данным ряда авторов, эти микроорганизмы способны к выделению различных веществ антигрибкового действия (органических кислот, пероксида водорода, диацетила, пептидов и других), причем для указанных метаболитов, как правило, характерно синергическое взаимодействие при проявлении биологического эффекта [3].

На кафедре микробиологии СПХФА изучали микробиоту такой саморегулирующейся природной ассоциации микроорганизмов как «Тибетский рис» (ТР). В ее составе обнаружили молочнокислые палочковидные бактерии рода *Lactobacillus*, УКБ и дрожжи двух видов, при этом ассоцианты находились в строме из полисахарида, формирующего «зерно» [4].

Цель данного исследования – поиск штаммов-антагонистов в отношении *C. albicans* среди микроорганизмов, входящих в состав ассоциации ТР.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования использовали природную ассоциацию микроорганизмов ТР, а также культуральную жидкость (КЖ), полученную при культивировании этой ассоциации на молочно-сахарной среде [4]. Посевной материал зерен вносили

* Контактное лицо: Тихомирова Ольга Михайловна
Тел.: (812) 315-24-96

в среду в количестве 5%. Культивирование проводили при $22 \pm 0,5$ °С в течение 3 суток. В конце ферментации зерна ТР отделяли фильтрованием, фильтрат КЖ использовали для исследования.

Антимикробную активность ассоциантов ТР в отношении дрожжей выявляли методом отсроченного антагонизма. Зерна ТР гомогенизировали путем растирания в стерильной ступке в стерильном физиологическом растворе в соотношении 1:10 (по объёму). Полученные гомогенаты разводили в 100 раз стерильным физиологическим раствором. КЖ разводили стерильным физиологическим раствором в 1000 раз. Разведенные гомогенаты и КЖ высевали поверхностным методом по 0,1 мл на агаризованные среды МРС, сусло-агар, среду с маннитом (МУР), дрожжевым экстрактом и пептоном для УКБ [4], Бригс (в модификации Шарп) и агар с сахарозой для *Leuconostoc* sp. [5]. Часть чашек термостатировали при $32,5 \pm 0,5$ °С, другую часть – при $22,0 \pm 0,5$ °С.

1 мл взвеси клеток тест-культуры *S. albicans* NCTC 885-653 добавляли к 9 мл расплавленной и охлажденной до 45-50 °С агаризованной среды Сабуро, перемешивали и заливали вторым слоем в чашки с колониями, образованными ассоциантами после 24, 48, 72 и 96 ч культивирования. Кроме того, в ряде экспериментов заливку выполняли непосредственно после посева ассоциантов. Культивирование в присутствии тест-микроорганизма проводили в течение 1 недели при $32,5 \pm 0,5$ °С или $22,0 \pm 0,5$ °С. Результаты оценивали по наличию чётко заметных зон ингибирования роста тест-культуры вокруг колоний ассоциантов (диаметр зон – 3 мм и более). Материал из колоний, вокруг которых наблюдали отсутствие роста *S. albicans*, отсевали на жидкую среду МРС, культивировали в течение 72 ч при $32,5 \pm 0,5$ °С или $22,0 \pm 0,5$ °С (в зависимости от того, при какой температуре была выявлена антагонистическая активность) и микроскопировали с окраской по Граму для определения микроморфологии клеток. При получении смешанных культур проводили дополнительные рассевы на соответствующих агаризованных питательных средах до получения чистых культур.

Антагонистическую активность отдельных чистых культур ассоциантов в отношении *S. albicans* также оценивали с использованием метода отсроченного антагонизма. Чистые культуры МКБ и УКБ выращивали на жидкой среде МРС в течение 48-72 ч, разводили стерильным физиологическим раствором до получения суспензий, содержащих 10^9 кл/мл. Агаризованные питательные среды МРС и Бригс разливали по 10 мл в чашки Петри диаметром 90 мм. После застывания среды на поверхность делали посев разведённой культуры соответствующего штамма двумя штрихами, равноудалёнными друг от друга и от краёв чашки. Посевы инкубировали в течение 72 ч при $32,5 \pm 0,5$ °С или $22,0 \pm 0,5$ °С. После инкубации, поверх выросших штрихов, вторым слоем заливали 5 мл расплавленной и охлажденной до 45-50 °С агаризованной среды Сабуро, в которую

заранее вносили взвесь тест-культуры *S. albicans* из расчёта 10^5 кл/мл. Культивирование в присутствии тест-микроорганизма проводили в течение 72 ч при $32,5 \pm 0,5$ °С или $22,0 \pm 0,5$ °С.

Чистые культуры дрожжей выращивали на жидкой среде Сабуро в течение 48 ч, разводили стерильным физиологическим раствором до получения суспензий, содержащих 10^9 кл/мл. Исследование проводили аналогично описанному выше, но культивировали на агаризованной среде Сабуро. Посевы инкубировали в течение 72 ч при $22,0 \pm 0,5$ °С.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Поскольку в состав ассоциации ТР входят микроорганизмы с различными физиологическими особенностями, гомогенат зёрен ТР и КЖ, полученную при культивировании ассоциации на молочно-сахарной среде, высевали на среды различного состава: МРС (поддерживает рост широкого спектра МКБ, некоторых УКБ и дрожжей), МУР (используют для выделения УКБ, преимущественно рода *Gluconobacter*), сусло-агар, среду Бригс в модификации Шарп (используют для выделения МКБ рода *Pediococcus*, также поддерживает рост ряда других МКБ), питательный агар с сахарозой (применяют при контроле пищевых продуктов для определения присутствия или подсчета количества бактерий рода *Leuconostoc*). Хотя на начальной стадии изучения ассоциации ТР на кафедре микробиологии СПХФА среди ассоциантов не были обнаружены кокковидные МКБ [4], последующими исследованиями показано, что бактерии такой микроморфологии не только присутствуют, но и составляют существенную часть ассоциации. Именно поэтому в план исследования были включены среды для *Pediococcus* spp. и *Leuconostoc* spp. При выборе температурных режимов для выделения антагонистов учитывали то, что традиционное культивирование ассоциации ТР для получения лечебно-профилактического напитка проводится при температуре 20-24 °С. В то же время температурный оптимум для большинства МКБ родов *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Carnobacterium* и других, выделяемых из различных источников (включая ферментированные продукты), а также УКБ находится в интервале 25-40 °С [6, 7]; для скрининга была выбрана середина этого интервала, поскольку оптимум для отдельных изолятов заранее известен не был. Кроме того, из данных научной литературы известно, что механизмы антагонизма МКБ, УКБ и дрожжей могут быть различны, причём метаболиты различной природы, обуславливающие антагонизм, образуются на разных сроках культивирования [8-10]. В связи с этим заливку второго слоя питательной среды с тест-культурой проводили либо сразу после посева ассоциантов, либо через 24 ч, 48 ч, 72 ч или 96 ч культивирования ассоциантов на соответствующих питательных средах при определённой температуре.

Наибольшее число антагонистов было выявлено на средах Бригс и МРС, меньше – на сусло-ага-

Таблица

Ингибирование роста *C. albicans* чистыми культурами бактерий-ассоциантов «Тибетского риса»

Штамм	Ингибирование роста тест-культуры на среде			
	МРС		Бригс	
	22,0±0,5 °C	32,5±0,5 °C	22,0±0,5 °C	32,0±0,5 °C
3	+++	+	+	++
5x-3	++	++	++	++
6	–	с	–	–
8	+++	+++	+	+
8x-3	++	++	+	++
9-IV-1	++	+++	++	++
10	+++	++	+++	++
12	++	+++	++	+++
13	с	++	с	++
15	+	+	+	+
15-V-1	+	++	++	++
17x-1	+	++	++	++
19	+	++	++	++
21	+	++	+	++
24	+	+	с	+++
30	с	++	с	–
33	+	++	+	++
35	++	+++	++	++
45	++	+	++	++
47	+	+	с	+
55	++	++	++	++
56	+++	++	++	+++
57	+	+	+	++
58	++	++	++	++
59	+	+	+	++
60	–	+	–	+
62	+	+	+	+
63	++	++	с	++
64	с	+	с	+
68	с	–	с	–

Примечание: ширина зоны ингибирования роста тест-культуры: +++ – более 25 мм, ++ – 10–25 мм, + – менее 5 мм; с (слабое ингибирование) – визуально заметное уменьшение числа колоний тест-культуры около штриха; ¼ – отсутствие ингибирующего действия. Жирным шрифтом выделены наиболее активные штаммы.

Наибольшую активность проявили штаммы 3, 8, 9-IV-1, 10, 12, 24, 35 и 56 (все они – МКБ): хотя бы на одной из питательных сред ширина зоны ингибирования роста тест-микроорганизма превышала 25 мм, при этом штаммы 9-IV-1, 10, 12, 56 и 35 были высокоактивны на обеих средах и при разных температурных режимах культивирования, а штамм 8 существенно ингибировал рост *C. albicans* на среде МРС. Среди отмеченных изолятов штамм 35 был представлен грамположительными кокковидными бактериями, предварительно идентифицированными как *Lactococcus lactis*; остальные имели форму палочек. Эффективное ингибирование роста патогенных дрожжей показали также изоляты 5x-3, 55 и 58. Высокая антагонистическая активность выделенных чистых культур сохранялась после 3-5 пересевов на жидкой среде МРС. Наименее активными оказались штаммы 6, 60 и 68.

Примеры ингибирования роста *C. albicans* чистыми культурами ассоциантов ТР приведены на рисунке. Из состава ассоциации были выделены 3 чистые культуры дрожжей, различавшихся по микроморфологии (штаммы 7, 16 и 67), из которых только

ре и агаре с сахарозой для *Leuconostoc* sp. На среде МҮР росли микроорганизмы, практически не ингибирующие рост *C. albicans* (был получен только 1 штамм-антагонист). Активные ассоцианты обнаружены в посевах, инкубированных при обоих температурных режимах: на средах Бригс и МРС более активны были микроорганизмы, растущие при 32,5±0,5 °C, на сусло-агаре и среде для *Leuconostoc* sp. – при 22,0±0,5°C.

При посеве тест-культуры *C. albicans* одновременно с ассоциантами ингибирование её роста проявлялось слабо – активных изолятов не было получено. Наиболее выраженным антагонизм был в тех случаях, когда между посевом ассоциантов и тест-культуры выдерживался промежуток времени 72 или 96 ч. Из этого следует, что основной вклад в антагонистическое действие ассоциантов ТР вносят накапливающиеся к этому времени в среде метаболиты.

Всего были получены 34 чистые культуры антагонистов из числа ассоциантов ТР. По своей микроморфологии 30 из них соответствовали МКБ (палочкам и коккам), 1 – УКБ, 3 – дрожжам. Обращает на себя внимание тот факт, что среди антагонистов выявили 2 штамма кокковидных грамположительных бактерий с гомоферментативным типом молочнокислого брожения. Молочнокислые кокки (лактококки, педиококки и другие) широко распространены во многих ферментированных продуктах, но ранее не были обнаружены в составе ассоциации ТР [4].

Для подтверждения способности выделенных чистых культур бактерий-ассоциантов ингибировать рост тест-культуры *C. albicans*, оценки стабильности этого свойства и выделения наиболее активных антагонистов, каждую из полученных культур проверяли индивидуально с использованием метода отсроченного антагонизма.

Из данных научной литературы известно, что состав питательной среды и условия культивирования могут оказать существенное влияние на антимикробную активность МКБ. В частности, в исследовании Залан и соавт. [11] высокая активность была отмечена на среде МРС, а также среде, содержащей сок топинамбура, в то время как среды, содержащие молочные компоненты, оказались менее эффективными. В связи с этим антагонизм ассоциантов ТР в отношении тест-штамма патогенных дрожжей проверяли при двух разных температурах культивирования (22,0±0,5 °C и 32,5±0,5 °C) на двух средах – МРС и Бригс (в модификации Шарп). Последняя включает томатный сок, который содержит не только смесь сахаров (глюкозы, фруктозы), но и анионы органических кислот (лимонной, щавелевой, винной), витамины, макро- и микроэлементы. Среда, содержащая томатный сок, рассматривают как перспективные для культивирования пробиотических микроорганизмов [12].

Было установлено, что все полученные чистые культуры бактерий угнетают (в разной степени) рост тест-штамма дрожжей (таблица).

штамм 7 ингибировал рост тест-микроорганизма на агаризованной среде Сабуро (ширина зоны ингибирования роста – 4 мм). Слабую активность в отношении дрожжей проявили изоляты 16 и 67 (подавление разрастания колоний тест-микроорганизма вблизи штриха). Следует отметить, что ранее [13] в ТР были выявлены только 2 вида дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae* и 1 новый вид – *Candida tibetica* sp. nov.) В связи с этим привлекает внимание третий штамм дрожжей, а также соотношение дрожжевых организмов в естественной ассоциации и их роль при взаимодействии с другими ассоциантами.

ВЫВОДЫ

1. В составе ассоциации ТР присутствуют МКБ, УКБ и дрожжи, являющиеся антагонистами в отношении *C. albicans*.

2. Выделенные из природной ассоциации микроорганизмов ТР ряд штаммов МКБ представляют интерес как основа для получения препаратов с противогрибковым действием.

3. В дальнейших исследованиях намечено идентифицировать полученные изоляты и изучить механизмы их антагонистической активности.

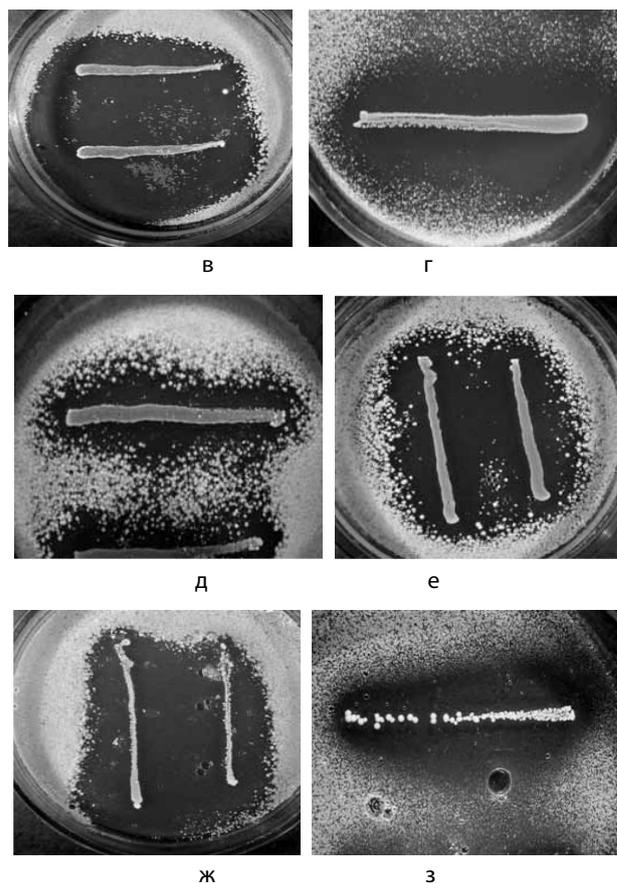
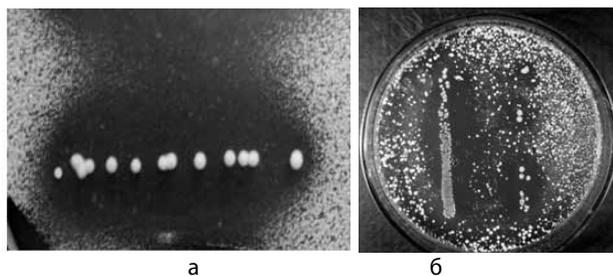


Рис. Ингибирование роста *C. albicans* микроорганизмами, входящими в состав ассоциации ТР. Штаммы: а – 3, б – 8х-3, в – 9-IV-1, г – 10, д – 13, е – 24, ж – 59, з – 63

ЛИТЕРАТУРА

1. Salminen S., Nybom S., Meriluoto J., et al. Interaction of probiotics and pathogens – benefits to human health? // Curr. Opin. Biotechnol. – 2010. – Vol. 21. – P. 157-167.
2. Глушанова Н.А. Биологические свойства лактобацилл // Бюл. сиб. мед. – 2003. – № 4. – С. 51-55.
3. Magnusson J., Strom K., Roos S., et al. Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria // FEMS Microbiol. Lett. – 2003. – Vol. 219. – P. 129-135.
4. Ларина О.Г. Микробиология природной ассоциации «Тибетский рис»: дис... канд. биол. наук. – СПб., 2000. – 180 с.
5. ГОСТ 10444.11-89. Продукты пищевые. Методы определения молочнокислых микроорганизмов. – М.: Изд-во стандартов, 1990. – 18 с.
6. Fermented Milks /Ed. A. Y. Tamime. – Blackwell Science, 2006. – 264 p.
7. Naakensen M., Dobson C. M., Hill J. E., Ziola B. Reclassification of *Pediococcus dextrinicus* (Coster and White 1964) Back 1978 (Approved Lists 1980) as *Lactobacillus dextrinicus* comb. nov., and emended description of the genus *Lactobacillus* // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. – 2009. – Vol. 59, №3. – P.615–621.
8. Ожован И.М., Арзуманян В.Г., Баснакьян И.А. Киллерные токсины клинически значимых дрожжей // Журн. микробиол. – 2002. – № 4. – С. 79-83.
9. Bartowsky E.J., Henschke P.A. Acetic acid bacteria spoilage of bottled red wine – A review // Int. J. Food Microbiol. – 2008. – Vol. 125, №1. – P. 60-70.
10. Strom K. Fungal inhibitory lactic acid bacteria. Characterization and application of *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393: doct. thesis / Strom Katrin. – Uppsala: Swedish Univ. Agr. Sci., 2005. – 39 p.
11. Zalán Z., Hudáček J., Štětina J., et al. Production of organic acids by *Lactobacillus* strains in three different media // Eur. Food Res. Technol. – 2010. – Vol. 230, №3. – P. 395-404.
12. Yoon K.Y., Woodams E.E., Hang Y.D. Probiotication of tomato juice by lactic acid bacteria // J. Microbiol. – 2004. – Vol. 42, №4. – P. 315-318.
13. Елинов Н.П., Ларина О.Г. Микробиота природной ассоциации «Тибетский рис» // Проблемы медицинской микологии. – 1999. – Т.1, №1. – С. 51-56.

Поступила в редакцию журнала 26.10.2011

Рецензент: А.А. Маметьева

СОПОСТАВЛЕНИЕ ВОСТРЕБОВАННОСТИ И ИНФОРМАТИВНОСТИ ПЦР ПРИ ДИАГНОСТИКЕ УРОГЕНИТАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

²Горелова Е.В. (врач-бактериолог),

¹Домакова Т.В. (врач-бактериолог),

¹Щеглов В.С. (врач-бактериолог),

²Бойцов А.Г. (профессор)*

¹Закрытое Акционерное Общество «Ситилаб»;

²кафедра медицинской микробиологии ГБОУ ВПО Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

© Коллектив авторов, 2011

*В настоящее время отсутствует общепризнанный алгоритм применения ПЦР при диагностике урогенитальных инфекций и интерпретации полученных результатов. В то же время применение этого метода для диагностики заболеваний, обусловленных условно-патогенными микроорганизмами, например *Candida albicans*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum*, может вести к необоснованному назначению антибактериальной терапии.*

Ключевые слова: *Candida*, микоплазмы, ПЦР, уреоплазмы, урогенитальные инфекции, хламидии

COMPARISON OF RELEVANT AND INFORMATIVE PCR IN DIAGNOSE OF UROGENITAL INFECTIONS OF DIFFERENT ETIOLOGY

²Gorelova E.V. (bacteriologist),

¹Domakova T.V. (bacteriologist),

¹Sheglov V.S. (bacteriologist), ²Boitsov A.G.

(professor)

¹Closed Joint-stock Company «Citylab»; ²chair of Medical Microbiology of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St.Petersburg, Russia

© Collective of authors, 2011

*The present day there is no universally accepted algorithm for the application of PCR for the diagnostics of urogenital infections and interpretation of results. At the same time, the application of PCR for diagnostics of infection by opportunistic such pathogens as *C. albicans*, *M. hominis*, *U. parvum* can make the antibiotic therapy to be unnecessary.*

Key words: *Candida*, chlamydia, mycoplasmosis, PCR, ureaplasmosis, urogenital infections

* Контактное лицо: Бойцов Алексей Геннадьевич
Тел.: (812) 543-16-20

ВВЕДЕНИЕ

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) в настоящее время является наиболее широко рекламируемым методом диагностики заболеваний, передающихся половым путем, в том числе – так называемых «скрытых инфекций» [1]. Несмотря на неоспоримые достоинства этого метода, возникает вопрос о соответствии его востребованности и диагностической эффективности в зависимости от предполагаемой этиологии патологического процесса. Наиболее часто используют «качественный» вариант постановки ПЦР, не позволяющий определить численность микроорганизмов в исследуемом материале. ПЦР в реальном времени (Real-Time PCR), позволяющая определить концентрацию инфекционного агента, применяют значительно реже из-за более высокой стоимости исследования. Кроме того, существуют определенные трудности, даже при сопоставлении результатов научных исследований, выполненных с использованием этого метода [2]. В связи с этим возникает вопрос о степени информированности лечащих врачей о диагностической ценности результатов ПЦР при диагностике инфекций, передающихся половым путем (ИППП).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проанализировали результаты 58136 исследований, выполненных в Санкт-Петербургском отделении ассоциации лабораторий «Ситилаб» в течение года с помощью ПЦР. При этом диагностировали 7 бактериальных инфекций, вызываемых *Chlamidia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealiticum*, *Ureaplasma parvum*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*. Для диагностики уреоплазмоза, по выбору лечащего врача, использовали праймеры отдельно к *U. urealiticum* и *U. parvum* и универсальный праймер к *Ureaplasma* spp. Отметим, что некоторые врачи, по-видимому, недостаточно информированы относительно целесообразности видовой дифференциации уреоплазм или их суммарного определения в тех или иных случаях. В связи с этим неоднократно зарегистрированы одновременно назначаемые исследования на *Ureaplasma* spp., *U. urealiticum* и *U. parvum*. Такие случаи расценивали как очевидную ошибку и результаты исследования с праймерами на *Ureaplasma* spp. из дальнейшей разработки исключали.

С помощью ПЦР также выявляли 1 протозойную (*Trichomonas vaginalis*), 1 грибковую (*Candida albicans*) и 3 вирусных инфекции (папилломавирусную, герпетическую и цитомегаловирусную). При диагностике герпетической инфекции, по назначению лечащего врача, определяли либо без дифференциации вирусы герпеса 1 и 2 типов, либо только вирусы герпеса второго типа. При диагностике папилломавирусной инфекции, в зависимости от назначения врача, выявляли вирусы высокого канцерогенного риска: 16, 31, 33, 35; 18, 39, 45, 59 и 52, 56, 58, 66 или

16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 58, 59, 67 типов.

В большинстве случаев лечащий врач назначал исследования на 3 и более инфекции.

При диагностике всех инфекций, кроме вызываемых вирусами папилломы человека, использовали амплификатор «Rotor-Gene 3000» («Corbett Research», Австралия) с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени». При этом «количественный» вариант постановки реакции не применяли. Вирусы папиллом человека выявляли с помощью амплификатора «Терцик» («ДНК-Технология», Россия) с электрофоретическим определением продуктов амплификации в агарозном геле. Использовали комплекты реагентов для выделения, амплификации и детекции в агарозном геле производства ЦНИИ эпидемиологии Федеральной службы Роспотребнадзора (Россия). Аналитическая чувствительность использованных наборов, по данным производителя, составляла от $5 \cdot 10^2$ до $2 \cdot 10^3$ ГЭ/мл (ГЭ - количество геномных эквивалентов микроорганизма в 1 мл образца клинического материала, помещенного в указанную транспортную среду).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При обследовании мужчинам чаще всего назначали исследования на *C. trachomatis*, *M. hominis* и *Ureaplasma* spp. (соответственно, 3208, 2098, 3046 исследований), реже – на *N. gonorrhoeae* и *C. albicans* (соответственно, 907 и 870 исследований) и вирусы.

Женщин чаще всего обследовали на *C. trachomatis*, *Ureaplasma* spp., *M. genitalium* (7866, 6533 и 4786 исследований соответственно), реже – на *C. albicans* и *N. gonorrhoeae* (474 и 418 исследований соответственно). Исследования в ПЦР на возбудителей вирусных инфекций в 2,7 раза чаще назначали женщинам, чем мужчинам, при этом лидирующее положение занимали папилломавирусы.

Из 44128 исследованных с помощью ПЦР образцов положительный результат был получен в 7666 случаях (13,2%). И у мужчин, и у женщин чаще всего

обнаруживали уреоплазмы, гарднереллы и папилломавирусы, на которые пришлось 64,58% от общего числа положительных результатов (табл.).

У мужчин из патогенных и условно-патогенных возбудителей чаще всего выявляли уреоплазмы: *Ureaplasma* spp. (без дифференциации видов) – в $24,66 \pm 2,38\%$ случаев, *U. urealyticum* – в $20,5 \pm 1,94\%$, *U. parvum* – в $3,75 \pm 0,92\%$. Уреоплазмы занимали доминирующие позиции и у женщин: *Ureaplasma* spp. (без дифференциации видов) – в $42,66 \pm 2,78\%$ случаев, *U. urealyticum* – в $1,92 \pm 0,38\%$, *U. parvum* – в $46 \pm 1,38\%$. Подчеркнем, что если доминирование уреоплазм у мужчин было связано с высокой частотой находок *U. urealyticum*, то у женщин наоборот, превалировали *U. parvum*.

Исследования на *G. vaginalis*, которые занимали второе место по выявляемости, врачи назначали чаще женщинам, чем мужчинам – 2033 и 1567 соответственно. При этом и положительных находок было значительно больше у женщин – $40,09 \pm 2,18\%$ против $19,02 \pm 1,98\%$ случаев – у мужчин.

У женщин *G. vaginalis* в $25,74 \pm 2,26\%$ случаев обнаруживали в сочетании с *U. parvum*, в $10,26 \pm 1,60\%$ – с *M. hominis* и в $8,96 \pm 3,02\%$ – с *C. albicans*. У мужчин *G. vaginalis* чаще выявляли в ассоциации с уреоплазмами: *U. urealyticum* – в $8,05 \pm 1,66\%$ случаев и *U. parvum* – в $1,76 \pm 0,8\%$, реже – с *M. hominis* ($4,52 \pm 1,8\%$).

Папилломавирусы заняли 3 место среди возбудителей ЗППП, выявленных с помощью ПЦР: $23,01 \pm 3,96\%$ случаев – у мужчин и $27,75 \pm 1,56\%$ – у женщин. Чаще всего пациентам назначали исследование на папилломавирусы типов 6, 11, 16, 18, 31, 33, на другие типы вирусов – значительно реже и, как правило, только женщинам.

ПЦР с целью обнаружения *C. albicans* врачи выбирали относительно редко: было обследовано 890 мужчин и 474 женщины. Частота находок указанных микроорганизмов у женщин была значительно выше, чем у мужчин: $20,04 \pm 3,68\%$ и $4,72 \pm 1,42\%$ соответ-

Таблица

Частота находок возбудителей урогенитальных инфекций у мужчин и женщин с помощью ПЦР

Обнаружены	Мужчины				Женщины			
	Число обследованных	В том числе с положительным результатом			Число обследованных	В том числе с положительным результатом		
Абс.		%	НВИ* 95	Абс.		%	НВИ* 95	
<i>C. trachomatis</i>	3208	203	6,3	5,5-7,2	7868	370	4,7	4,2-5,2
<i>M. hominis</i>	2098	147	7,0	5,9-8,1	4694	545	11,6	10,7-12,6
<i>M. genitalium</i>	1919	41	2,1	1,5-2,8	4786	88	1,8	1,5-2,2
<i>Ureaplasma</i> spp.	1314	324	24,7	22,3-27,0	1261	538	42,7	39,9-45,4
<i>U. urealyticum</i>	1732	355	20,5	18,6-22,4	5272	101	1,9	1,5-2,3
<i>U. parvum</i>	1732	65	3,8	2,8-4,7	5272	2425	46,0	44,6-47,4
<i>N. gonorrhoeae</i>	907	14	1,5	0,7-2,4	418	3	0,7	0-1,5
<i>G. vaginalis</i>	1567	298	19,0	17,0-21,1	2033	815	40,1	37,9-42,3
<i>C. albicans</i>	890	42	4,7	3,3-6,1	474	95	20,0	16,4-23,7
<i>T. vaginalis</i>	2031	15	0,7	0,4-1,1	2136	21	0,9	0,6-1,4
Папилломавирусы	452	104	23,0	19,1-26,9	3279	910	27,8	26,2-29,3
Вирусы простого герпеса 1-2	347	19	5,5	3,0-7,9	717	28	3,9	2,5-5,4
Вирусы герпеса 2	138	6	4,4	1,8-6,9	651	29	4,5	2,8-6,1
Цитомегаловирусы	254	11	4,3	1,8-6,9	686	54	7,8	5,8-9,9

*НВИ 95 – наиболее вероятный интервал при $P=95\%$

ственно.

У женщин *C. albicans* чаще всего обнаруживали в ассоциации с *T. vaginalis* (13,56±4,46%) и *Ureaplasma* spp. (12,41±8,66%), чуть реже – с *U. parvum* (10,53±3,42%).

У мужчин первое место по частоте совместных находок занимали *Ureaplasma* spp. (3,64±1,78%), второе – *G. vaginalis* (1,34±0,88%), третье – *T. vaginalis* (1,13±0,74%).

По частоте назначений при обследовании на возбудителей урогенитальных инфекций методом ПЦР *M. hominis* была на третьем месте у мужчин и на четвертом – у женщин (2098 и 4694 соответственно), а по частоте выявления – на последнем среди условно-патогенных микроорганизмов. *M. hominis* чаще выявляли у женщин (11,61±0,94%), чем у мужчин (7,01±1,12%).

M. hominis у женщин чаще обнаруживали в сочетании с *G. vaginalis* (10,26% случаев), реже – с *U. parvum* (8,49%) и *Ureaplasma* spp. (7,69%).

У мужчин *M. hominis* наиболее часто выявляли в ассоциации с *Ureaplasma* spp. (5,79±1,48%), на втором месте была *G. vaginalis* (4,52±1,24%), на третьем – *U. urealyticum* (3,52±1,04%).

Распределение мест среди назначений исследований на обнаружение истинных патогенов у мужчин выглядит следующим образом: *C. trachomatis*, *T. vaginalis*, *M. genitalium* и *N. gonorrhoeae* (3208, 2031, 1919 и 907 соответственно). При этом по частоте находок *C. trachomatis* (6,33±0,86%) также занимает первое место, затем идут *M. genitalium* (2,14±0,66%), *N. gonorrhoeae* (1,54%) и *T. vaginalis* (0,74%).

У женщин частота назначений исследований на обнаружение истинных патогенов и частота находок этих возбудителей фактически повторяли друг друга: *C. trachomatis* (7868 и 4,70%), *M. genitalium* (4786 и 1,84%), *T. vaginalis* (2136 и 0,98%) и *N. gonorrhoeae* (418 и 0,72%).

ПЦР чаще всего используют лечащие врачи с целью диагностики хламидиоза. В нашем случае постановка ПЦР с целью выявления *C. trachomatis* составила 19,05±0,32% случаев от общего числа анализов, выполненных с помощью данного метода. У мужчин *C. trachomatis* чаще других обнаруживали в сочетании с *Ureaplasma* spp. (2,83% случаев), реже – с *U. urealyticum* (2,44%) и *G. vaginalis* (1,58%). У женщин *C. trachomatis* наиболее часто выявляли в ассоциации с *G. vaginalis* (5,41%), а также с *U. parvum* (2,90%) и с *Ureaplasma* spp. (1,76%).

Среди патогенов *M. genitalium* занимает второе

место по назначениям при обследовании у женщин и третье место – у мужчин (4786 и 1919 соответственно). При анализе всех назначений показано, что *M. genitalium* входит в первую четверку как у женщин, так и у мужчин.

M. genitalium чаще выявляли у мужчин (2,14±0,66%), чем у женщин (1,84±0,38%). Обращает на себя внимание тот факт, что этот возбудитель находится на втором месте по частоте выявления среди истинных патогенов, вызывающих ИППП вне зависимости от пола обследуемого.

Первое место по частоте совместных находок с *M. genitalium* у мужчин занимали *Ureaplasma* spp., второе – *U. urealyticum*, третье – *M. hominis* (1,02±0,64, 0,40±0,36 и 0,34±0,34% соответственно), у женщин их чаще обнаруживали в ассоциации с *U. parvum* (1,39±0,38%), *C. albicans* (1,12±1,12%) и *Ureaplasma* spp. (0,82±0,62%).

Частота выявления нейссерий, трихомонад, вирусов герпеса, цитомегаловирусов была столь низка, что сопоставление ее с другими возбудителями ИППП дало бы заведомо не достоверные результаты, поэтому это исследование не проводили.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, из общего числа врачебных назначений только 40,0±0,4% были направлены на выявление истинных патогенов бактериальной и протозойной природы, сам факт обнаружения которых поддается однозначной оценке. В остальных случаях для клинической трактовки была необходима дополнительная информация, чаще всего о количестве предполагаемого патогена в исследуемом материале. Особое беспокойство вызывает применение ПЦР для диагностики кандидоза. Во-первых, *Candida* spp. присутствуют в составе нормобиоты влагалища более чем у 10% здоровых женщин, и о микотическом вагините можно говорить только при их обнаружении в количестве более 10⁴ КОЕ/г [3]. Во-вторых, *C. albicans* является ведущим, но далеко не единственным, возбудителем микотической патологии влагалища [4]. При этом препараты, эффективные для элиминации *C. albicans*, могут оказаться бесполезными при лечении кандидозов, обусловленных *C. glabrata* и *C. krusei*. В связи с вышеизложенным, следует усомниться в обоснованности широкомасштабного применения ПЦР при урогенитальных инфекциях, обусловленных условно-патогенными микроорганизмами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дмитриев Г.А. Стратегия лабораторной диагностики ИППП // Генодиагностика инфекционных болезней. – М.: Медицина для всех, 2004. – Т. 1. – С. 28-29.
2. Bustin S.A., Benes V., Garson J.A., et al. The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments // Clin. Chemistry. – 2009. – Vol.55. – P. 611-622.
3. Мороз А.Ф., Снегирёва А.Е. Методические рекомендации. Грибы рода *Candida* (Методы выделения, идентификации на видовом уровне и определение чувствительности к противогрибковым препаратам. – М.: НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, 2009. – 56 с.
4. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Кандидоз. – М., Триада-Х, 2001. – 472 с.

Поступила в редакцию журнала 07.12.2011

Рецензент: А.К. Мирзабалаева

ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS РАЗНОЙ ВИРУЛЕНТНОСТИ И АЛЬВЕОЛЯРНЫХ МАКРОФАГОВ

**Васильева Н.В. (директор НИИ),
Степанова А.А. (вед.н.сотр.)*,
Филиппова Л.В. (научный сотрудник),
Босак И.А. (миколог), Синицкая И.А.
(ст.н.сотр.), Чилина Г.А. (зав. лаб.)**

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина
Северо-Западного государственного медицинского
университета им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург,
Россия

© Коллектив авторов, 2011

*В статье представлены данные светооптических исследований особенностей взаимодействия между альвеолярными макрофагами и клетками шести штаммов *C. neoformans* (РКПГ-881; РКПГ-1165, РКПГ-1178, РКПГ-1090, РКПГ-1095, РКПГ-1106) разной вирулентности при экспериментальном криптококкозе.*

*Выявили, что альвеолярные макрофаги мышей, инфицированных штаммами *C. neoformans* слабой вирулентности, поглощали в два раза более крупные дрожжевые клетки по сравнению с сильновирулентными.*

Ключевые слова: альвеолярный макрофаг, вирулентность, врожденный иммунитет, *Cryptococcus neoformans*, экспериментальный криптококкоз

PECULIARITIES OF CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS OF DIFFERENT VIRULENCE INTERACTION AND MURINE ALVEOLAR MACROPHAGES

**Vasilyeva N.V. (director of Institute), Stepanova
A.A. (leading researcher), Filippova L.V.
(scientific researcher), Bosac I.A. (laboratory
mycologist), Sinitskaya I.A. (senior researcher),
Chilina G.A., (head of laboratory)**

Kashkin Research Institute of Medical Mycology of
North-Western State Medical University named after I.I.
Mekhnikov, St.Petersburg, Russia

© Collective of authors, 2011

The light microscopic investigations of peculiarity interactions between murine lung macrophages and the cells of three poorly (RCPF-

* Контактное лицо: Степанова Амалия Аркадьевна
Тел.: (812) 303-51-40

881; RCPF-1165, RCPF-1178) and three strongly (RCPF-1090, RCPF-1095, RCPF-1106) virulent strains of *C. neoformans* after seven days of beginning of experiments have been presented in this article.

It was revealed that macrophages of the mice, infected with cultures of poorly virulent strains phagocytized in twice larger yeast fungal cells in comparison with similar the mice infected with cultures strongly virulent once.

Key words: alveolar macrophages, *Cryptococcus neoformans*, experimental cryptococcosis, innate immunity, virulence

ВВЕДЕНИЕ

Макрофагам отводят ведущую роль в патогенезе криптококкоза [1]. Однако клеточные аспекты взаимоотношений криптококка – макрофаг при экспериментальном криптококкозе с использованием штаммов *C. neoformans* разной вирулентности изучены недостаточно, что и явилось основной целью настоящей работы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовали культуры шести штаммов *C. neoformans* (РКПГ-881; РКПГ-1165, РКПГ-1178, РКПГ-1090, РКПГ-1095, РКПГ-1106) из Российской коллекции патогенных грибов НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И.Мечникова. Все штаммы были выделены от больных криптококкозом.

Для определения степени вирулентности *C. neoformans* животным вводили по 0,5 мл взвеси патогена (с концентрацией 10^7 , 10^6 , 10^5 , 10^4 и 10^3 клеток криптококка). Каждую дозу испытывали на 10 мышах. В качестве количественной характеристики была принята величина LD 50, которую определяли на 28 суток методом «пробитов» [2].

Модель экспериментального криптококкоза воспроизводили на белых беспородных мышах-самцах массой тела 18-20 г, которых инфицировали внутривенно (доза – $5 \cdot 10^5$ кл/мышь) клетками 3-х дневных культур *C. neoformans*, выращенных при 37 °С на агаре Сабуро (рН 5,7). Через 7 дней после начала эксперимента кусочки легких мышей фиксировали глутаральдегидом-осмием и заливали в смесь эпоксидных смол эпон-аралдит по методике, описанной нами ранее [2, 3].

Диаметр зрелых клеток культур и толщину их полисахаридной капсулы изучали при микроскопии препаратов с применением туши с помощью светового микроскопа Leica DM 4000, используя программное обеспечение Leica IM 1000, Adobe Photoshop 7, Excel и персональный компьютер на базе процессора Intel. Подсчет числа фагоцитированных альвеолярными макрофагами клеток *C. neoformans*, их диаметр и толщину капсулы проводили на полутонких эпоксидных срезах толщиной 3-5 мкм, окрашенных толуидиновым синим. Полученные данные обрабатывали статистически параметрическим методом Стьюдента (t) с определением средней арифметической величины (M) и ошибки средней (m). Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Определение средних значений диаметра клеток гриба и

Таблица 2

Средние значения диаметра клеток и толщины капсулы *C. neoformans* разной вирулентности, поглощенных альвеолярными макрофагами (через 7 дней после начала эксперимента)

Штаммы <i>C. neoformans</i> (РКПГ)	Пределы варьирования диаметра клеток <i>C. neoformans</i> , мкм	Диаметр клеток гриба, $M \pm m$, мкм	Пределы варьирования толщины капсулы клеток <i>C. neoformans</i> , мкм	Толщина капсулы <i>C. neoformans</i> , $M \pm m$, мкм
Слабовирулентные штаммы				
881	7,14–35,7	19,04±1,12	0,36–17,85	7,58±0,64
1165	7,14–36,65	15,98±1,11	1,79–21,66	6,70±0,77
1178	7,85–57,12	20,23±1,33	1,79–39,27	8,62±0,90
Сильновирулентные штаммы				
1090	3,96–13,76	8,20±0,42	0,17–8,60	3,03±0,31
1095	3,96–15,48	7,85±0,39	0,52–7,40	2,36±0,28
1106	3,96–15,31	9,50±0,50	0,89–9,29	4,71±0,37

По данным светооптических исследований, в тканях легких мышей вблизи одиночных клеток гриба (Рис. 1а,б) и скоплений из небольшого их числа (Рис. 1б) макрофаги отсутствовали. Последние можно было наблюдать по периферии «цист» и на разных уровнях в их содержимом (Рис. 1в). На рисунке 1и стрелкой показана адгезия гриба к поверхности макрофага, тогда на рисунках 1з,д,н – более поздние стадии фагоцитоза. В парадермальных срезах альвеолярных макрофагов, локализирующихся вблизи и внутри «цист», обнаружили, что один макрофаг может одновременно фагоцитировать до трех одиночных дрожжевых клеток (Рис. 1г). Редко наблюдали почкующиеся клетки гриба, локализирующиеся внутри макрофага (Рис. 1ж).

При анализе средних значений толщины клеточной стенки, диаметра зрелых дрожжевых клеток гриба и толщины полисахаридной капсулы (табл. 3), характерных для клеток культур изученных штаммов *in vitro* и *in vivo*, выявили значительное увеличение этих показателей у тканевых форм гриба. Так, в 1,5–2 раза возросла толщина клеточной стенки у клеток гриба всех изученных в настоящей работе слабовирулентных штаммов и одного – сильновирулентного (РКПГ-1106).

Таблица 3

Средние значения диаметра зрелых клеток *C. neoformans*, толщины их капсулы и клеточной стенки у изученных штаммов *in vitro* и *in vivo*

Штаммы <i>C. neoformans</i> (РКПГ)	Диаметр клеток <i>in vitro</i> , мкм	Толщина капсулы <i>in vitro</i> , мкм	Толщина клеточной стенки <i>in vitro</i> , мкм	Диаметр клеток <i>in vivo</i> , мкм	Толщина капсулы <i>in vivo</i> , мкм	Толщина клеточной стенки <i>in vivo</i> , мкм
Слабовирулентные штаммы						
881	12,05±0,25	4,95±0,30	0,16±0,0035	15,89±0,17	8,55±0,16	0,30±0,0052
1165	10,00±0,54	3,25±0,43	0,12±0,0020	55,31±0,64	4,45±0,31	0,24±0,0038
1178	10,04±0,62	2,40±0,35	0,23±0,0031	45,37±0,82	3,42±0,14	0,45±0,0027
Сильновирулентные штаммы						
1090	9,14±0,12	2,21±0,13	0,19±0,0028	37,58±0,77	19,10±0,65	0,21±0,0029
1095	9,53±0,36	1,72±0,54	0,22±0,0025	29,18±0,33	4,92±0,25	0,22±0,0043
1106	10,90±0,20	3,77±0,19	0,29±0,0018	66,54±2,08	4,40±0,27	0,40±0,0047

толщины капсулы *in vivo* и *in vitro* проводили для 50 клеток каждого штамма гриба, тогда как подсчет среднего числа клеток гриба в альвеолярных макрофагах – в 100 фагоцитах.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Через 7 дней после начала эксперимента в ткани легких мышей отмечали одиночные клетки гриба (Рис. 1а), скопления из нескольких клеток (Рис. 1б), а также довольно крупные пустотные образования – так называемые «цисты» (Рис. 1в). При просмотре полутонких эпоксидных срезов в световом микроскопе (x1000) четко отмечали, что клетки *C. neoformans* в «цистах» различались между собой по диаметру (Рис. 1в,г). Содержимое интактных клеток грибов в «цистах», а также находящихся в содержимом макрофагов на разных стадиях фагоцитоза, после окрашивания ткани легких мышей толуидиновым синим, становились темно-синими (Рис. 1в,г), тогда как содержимое отмерших и отмирающих клеток – бесцветным (Рис. 1а,г,н). Часто выявляли почкующиеся дрожжевые клетки грибов внутри «цист».

Альвеолярные макрофаги мышей, инфицированных культурами штаммов *C. neoformans* разной вирулентности, достоверно не различались между собой по числу фагоцитированных клеток гриба (табл. 1).

Таблица 1

Фагоцитарная активность альвеолярных макрофагов при экспериментальном криптококкозе (через 7 дней после начала эксперимента)

Штаммы <i>C. neoformans</i> (РКПГ)	Фагоцитарное число	Пределы варьирования числа клеток <i>C. neoformans</i> внутри макрофага
Слабовирулентные штаммы		
881	3,09±0,15	1-6
1165	3,26±0,14	1-6
1178	3,55±0,14	1-6
Сильновирулентные штаммы		
1090	3,57±0,16	1-6
1095	3,19±0,16	1-8
1106	3,03±0,14	1-7

Как видно из таблицы 1, число поглощенных макрофагами клеток гриба варьировало от 1 до 8. Отметим, что альвеолярные макрофаги мышей, инфицированные слабовирулентными штаммами криптококка, фагоцитировали в два раза более крупные дрожжевые клетки, имеющие, соответственно, вдвое более толстые капсулы по сравнению с таковыми мышей, инфицированных культурами сильновирулентных штаммов (табл. 2).

Лишь у клеток двух сильновирulentных штаммов (РКПГ-1090 и РКПГ-1095) значения толщины клеточной стенки оставались практически без изменений.

Средние значения диаметра зрелых клеток гриба практически не изменялись у слабовирulentного штамма РКПГ-881, но в 4-5 раз возрастали у штамма аналогичной вирulentности – РКПГ-1165 и РКПГ-1178. Для клеток всех сильновирulentных штаммов *C. neoformans* отмечали увеличение средних значений их диаметра, однако показатели варьировали от штамма к штамму (в 3 раза – у клеток штамма РКПГ-1095, в 6,1 и 4,1 соответственно – у штаммов РКПГ-1106 и РКПГ-1090).

В группе слабовирulentных штаммов толщина полисахаридной капсулы клетки гриба увеличивалась незначительно, за исключением штамма РКПГ-881, у клеток которого эти значения возросли в 1,7 раза. Анализируемый показатель у клеток сильновирulentного штамма РКПГ-1090 возрастал в 8,6 раз; тогда как у РКПГ-1095 и РКПГ-1106 соответственно – в 2,8 и 1,2 раза.

В ряде работ, на светооптическом уровне *in vitro* – на примере макрофагов человека и *in vivo* – на примере макрофагов легких мышей [4-6], было продемонстрировано, что фагоцитированные макрофагами дрожжевые клетки могут активно делиться и расти, что, в конечном итоге, может привести к лизису содержимого макрофага. Tucker S.C. и Casadevall A. [5] считают, что репликация *C. neoformans* внутри макрофагов может сопровождаться синтезом ферментов, включая протеиназы и фосфолипазы, которые разрушают мембрану фагосом. В полученном материале мы также часто наблюдали фагосомы, содержащие от 2 до 5 дрожжевых клеток (Рис. 1м).

Во всех изученных вариантах эксперимента, в содержимом «цист» мы наблюдали контакт между двумя (Рис. 1з), тремя (Рис. 1и) и даже четырьмя макрофагами (Рис. 1к), в содержимом которых присутствовали клетки гриба. При этом контактирующие макрофаги могли фагоцитировать дрожжевые клетки (Рис. 1з,и, стрелки). Ранее был описан феномен так называемой «латеральной передачи» дрожжевых клеток *C. neoformans* [7, 8] от инфицированных к неинфицированным грибами макрофагам. Однако эти данные были зарегистрированы в экспериментах *in vitro*. Как считают Alvarez M. и Casadevall A. [7], это довольно редкое явление представляет собой очень важную стратегию патогена, позволяющую клеткам гриба противостоять действию антимикотиков. Подобную картину контакта макрофагов, содержащих клетки криптококка и без них, мы наблюдали в полученном материале (Рис. 1о), однако встречались они крайне редко.

Обнаруженные в ткани легкого мышей, инфицированных культурами сильно-вирulentного штамма РКПГ-1106, так называемые «гигантские» клетки гриба ранее отмечали в работах другие авторы как *in vitro* [2], так и *in vivo* [9]. Отметим, что ранее для штамма РКПГ-1090 в условиях культуры было также

выявлено формирование таких клеток [2] при рецидиве криптококкоза у ВИЧ-инфицированного пациента на фоне лечения флуконазолом. Cruickshank J.G. с соавторами (1973) описали их в культурах изолятов, полученных из плевральной жидкости пациентов, причем их диаметр доходил до 80 мкм. Anandi V. с соавторами (1991) обнаружили крупные клетки у дрожжевых форм гриба в культурах, изолированных от ВИЧ-инфицированных больных. Крупные клетки отличались наличием более толстых клеточных стенок и полисахаридных капсул. Аналогичные формы были выявлены в культурах некоторых штаммов криптококка, а также непосредственно в тканях легких мышей [9], где даже через 24 часа после инфицирования они не подвергались фагоцитозу. Описываемые клетки по размерам были крупнее макрофагов, а их диаметр доходил до 28 мкм, что, согласно мнению авторов, не позволяло последним поглощать их. «Гигантские» клетки гриба были найдены также у изолятов, выделенных из легких и спинномозговой жидкости человека. В исследованиях Zaragoza O. с соавторами [10] на примере ряда штаммов *C. neoformans* было показано, что крупные клетки отсутствовали в культурах гриба, однако появлялись после инфицирования ими легких мышей, где их диаметр (включая толщину полисахаридной капсулы) мог варьировать от 40 до 60 мкм и, в среднем, составлял 30 мкм. Как считают авторы, присутствие гигантских дрожжевых клеток криптококка в ткани легкого представляет собой серьезную проблему для иммунной системы хозяина, поскольку альвеолярные макрофаги не способны их поглощать. В связи с вышеизложенным, интересными представляются исследования Blackstock R. с соавт. (1997, 1999), согласно которым при инфицировании мышей культурами *C. neoformans*, имеющими клетки с тонкими капсулами, толщина последних остается без изменений в ткани легких; при этом они быстро и легко удалялись из ткани легких, не вызывая развития заболевания.

При сравнении средних значений диаметра клеток *C. neoformans*, поглощенных альвеолярными макрофагами и локализующихся в тканях легких мышей (см. табл. 2 и 3), очевидно, что для всех изученных штаммов, за исключением штамма РКПГ-881, в легких мышей клетки гриба были в несколько раз (в 3,5 раза – для штамма РКПГ-1165, в 2,2 раза – для штамма РКПГ-1178, в 4,6 раза – для штамма РКПГ-1090, в 3,7 раза – для штамма РКПГ-1095 и в 7 раз – для штамма РКПГ-1106) крупнее того «ассортимента», который был выявлен внутри макрофагов. Пределы средних значений фагоцитированных клеток изученных штаммов гриба варьировали от 3,96 до 7,85 мкм, что значительно больше средних значений диаметра клеток гриба, составляющих «цисты».

В результате проведенных исследований показано, что при экспериментальном криптококкозе альвеолярные макрофаги мышей, инфицированных штаммами *C. neoformans* слабой и сильной вирulentности, не различались между собой по количеству

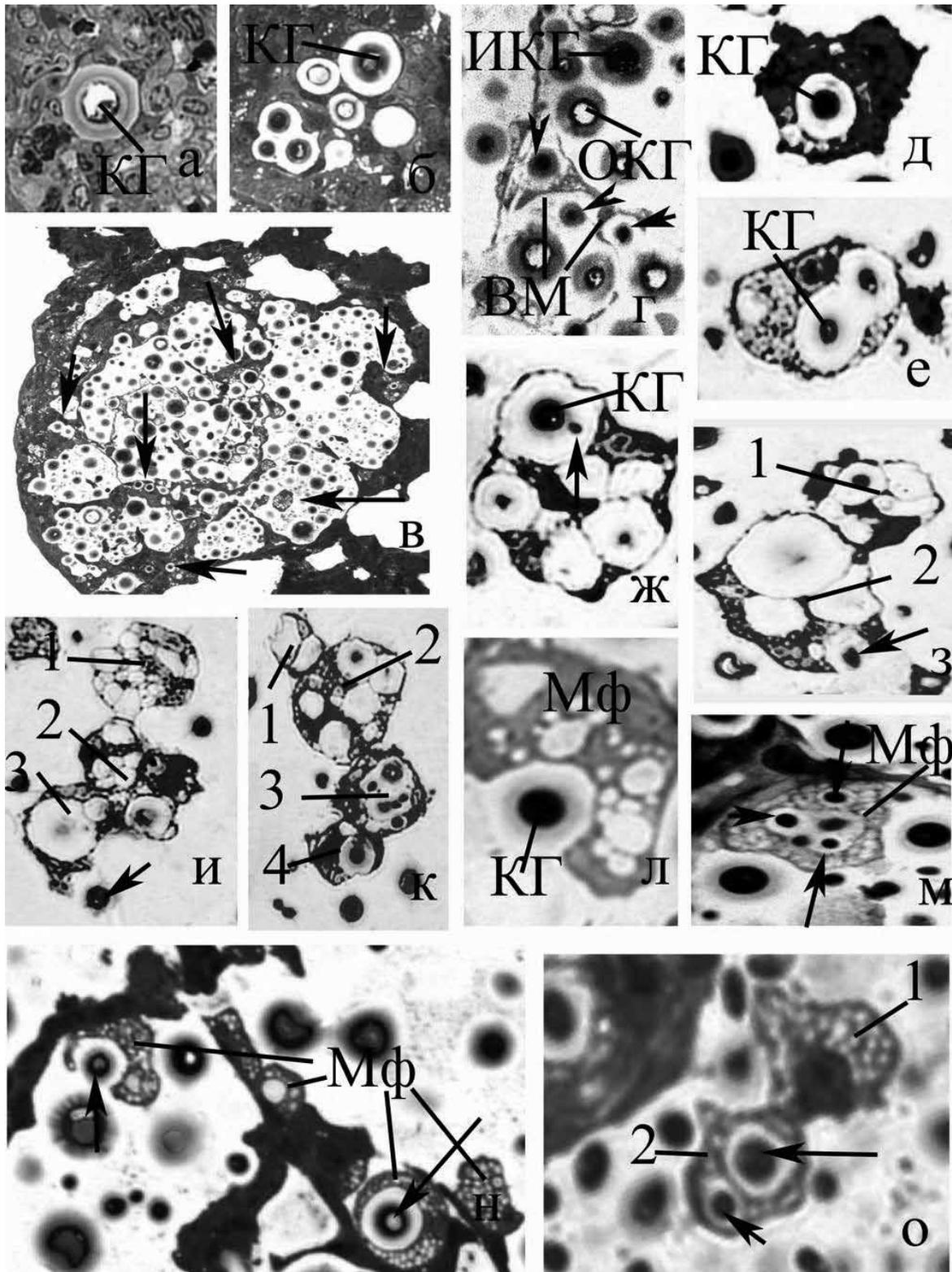


Рис. 1. а – одиночная клетка гриба в ткани легкого мыши, инфицированной культурой сильновирулентного штамма РКПГ-1090; б – скопление из небольшого числа клеток криптококка в ткани легкого мыши инфицированной культурой слабо вирулентного штамма РКПГ-881; в – общий вид цисты в ткани легкого мыши, инфицированной культурой сильно вирулентного штамма РКПГ-1095; г – фрагмент цисты с клетками гриба (штамм РКПГ-1095) и макрофагами; д-о – особенности морфологии макрофагов в ткани легких инфицированных мышей (д,е – РКПГ-1178; ж,з – РКПГ-1106; и,к – РКПГ-1165; л,м – РКПГ-1090; н,о – РКПГ-881).
 Условные обозначения: ВМ – выросты макрофага; ИКГ – интактная клетка гриба; КГ – клетка гриба; Мф – макрофаг; ОКГ – отмершая клетка гриба. Цифрами обозначены макрофаги. ↑ в – стрелками показаны макрофаги; ↑ г – стрелками показаны клетки гриба на начальных стадиях фагоцитоза, ↑ ж – стрелкой показана дочерняя почка; ↑ з,и,м,н,о – стрелками показаны клетки гриба. Ув.: а,б,г,д-к,м,о – х1000; в – х700; л – х 1200; н –х900.

поглощенных криптококков. В то же время, альвеолярные макрофаги, инфицированные культурами слабовирулентных штаммов, фагоцитировали в два раза более крупные дрожжевые клетки гриба, по сравнению с сильновирулентными.

ЛИТЕРАТУРА

1. Guerrero A., Jain N., Wang X., Fries B.C. Cryptococcus neoformans variants generated by phenotypic switching differ in virulence through effects on macrophage activation // Infect. and Immun. – 2010. – Vol. 78, №3. – P. 1049-1057.
2. Васильева Н.В. Факторы патогенности *Cryptococcus neoformans* и их роль в патогенезе криптококкоза: Дисс... на соиск. уч. ст. д.б.н., СПб., 2005. – 340 с.
3. Васильева Н.В., Степанова А.А., Синицкая И.А. Особенности морфогенеза клеток *C. neoformans* в зависимости от их вирулентности // Проблемы медицинской микологии. – 2007. – Т. 9, №2. – С. 23-30.
4. Feldmesser M., Kress Y., Casadevall A. Intracellular crystal formation as a mechanism of cytotoxicity in murine pulmonary *Cryptococcus neoformans* infection // Infect. Immun. – 2001a. – Vol. 69, №4. – P. 2723-2727.
5. Tucker S.C., Casadevall A. Replication of *Cryptococcus neoformans* in macrophages is accompanied by phagosomal permeabilization and accumulation of vesicles containing polysaccharide in the cytoplasm // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. – 2002. – Vol. 99, №5. – P. 3165-3170.
6. Harrison T.S., Levitz S.M. *Cryptococcus neoformans* and macrophages. Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y. – 2002.
7. Alvares M., Casadevall A. Cell-to-cell spread and massive vacuole formation after *Cryptococcus neoformans* infection of murine macrophages // BMC Immunology. – 2007. – 8:16doi:10.1186/1471-2172-8-16.
8. Ma H., Croudace J.E., Lammas D.A., May R.C. Direct cell-to-cell spread of a pathogenic yeast // BMC Immunol. – 2007. – Vol. 8. – 15 p.
9. Feldmesser M., Tucker S., Casadevall A. Intracellular parasitism of macrophages by *Cryptococcus neoformans* // Trends Microbiol. – 2001b. – Vol. 9. – P.273-278.
10. Zaragoza O., Roci'o Garcí'a-Rodas R., Nosanchuk J.D., et al. Fungal cell gigantism during mammalian infection // Plos. pathogen (Freely Online), 2010. – Vol. 6, Issue 6. – 18 p.

Поступила в редакцию журнала 29.12.2011

Рецензент: Фролова Е.В.



НОВОСТИ ИЗ ДИССЕРТАЦИОННЫХ СОВЕТОВ

**Шевяков М.А. (Ученый секретарь
диссертационного совета Д208.089.04)****

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

© Шевяков М.А., 2011

NEWS OF THE DISSERTATION COUNCILS

**Shevyakov M.A. (Scientific Secretary of the
Dissertation Council D208.089.04)**

North-Western State Medical University named after I.I.Mechnikov, St. Petersburg, Russia

© Shevyakov M.A., 2011

Диссертационный совет Д 208.089.04 создан при Государственном образовательном учреждении дополнительного профессионального образования «Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию».

В данном совете в 2011 году по специальности 03.02.12 – микология было защищено 3 диссертации (все – на соискание ученой степени кандидата медицинских наук).

Исследование Борзовой Ю.В. (вторая специальность 14.01.04 – внутренние болезни) было посвящено изучению клинко-лабораторных вариантов хронического аспергиллеза легких. Было установлено, что хроническое течение заболевания обнаружили у 40% больных инвазивным аспергиллезом легких. Хронический инвазивный аспергиллез легких возникает преимущественно у мужчин среднего возраста. У детей хроническое течение выявляли достоверно реже (6% в сравнении с 27%). Наиболее часто хронический аспергиллез легких развивается у гематологических больных (84%). Хроническое течение инвазивного аспергиллеза легких возникает чаще у пациентов с патологией легких (12% в сравнении с 1,2%). Основные факторы риска развития хронического инвазивного аспергиллеза легких: длительное цитостатическое (более 6 курсов) и глюкокортикостероидное (более 45 дней) лечение, а также длительная лимфоцитопения (более 45 дней). С практической стороны было показано, что для ранней диагностики инвазивного аспергиллеза легких у больных с факторами риска необходимо определять галактоманнан в сыворотке крови методом «*Platelia*

Aspergillus EIA» два раза в неделю. Работа была выполнена в Государственном образовательном учреждении дополнительного профессионального образования «Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию (ГОУ ДПО СПбМАПО), научные руководители – д.б.н. Васильева Н.В. и д.м.н. Климко Н.Н.

Кандидатская диссертация Пупковой М.А. посвящена изучению диагностического значения различных микромицетов, выделенных из ногтевых пластин от 508 пациентов с подозрением на наличие у них онихомикоза. Был установлен спектр микромицетов (дерматомицетов, нитчатых недерматомицетов, дрожжей и их ассоциаций), изолированных от пациентов с онихомикозом в Санкт-Петербурге. Микромицеты, выделенные из ногтевых пластин у больных онихомикозом, обладают различной кератинозной активностью: дерматомицеты – выраженной, нитчатые недерматомицеты – от выраженной до слабой и дрожжевые организмы – слабой или совсем не проявляют активности. При диагностике онихомикоза рекомендуют проводить исследование патологического материала с помощью люминесцентной (калькофлюор белый) или световой микроскопии с применением раствора *KOH+DMSO*+ метиленовый синий. Работа была выполнена в ГОУ ДПО СПбМАПО, научный руководитель – д.б.н. Васильева Н.В.

В научном исследовании Хостелиди С.Н. изучала клинко-лабораторные особенности внутрибольничного инвазивного аспергиллеза. Было показано, что внутрибольничный инвазивный аспергиллез составляет 69,5% всех случаев инвазивного аспергиллеза и развивается преимущественно у мужчин до 40 лет (медиана – 37 лет), а внебольничный инвазивный аспергиллез – у мужчин старшего возраста (медиана – 48 лет). Основные факторы риска развития инвазивного аспергиллеза: цитостатическая полихимиотерапия (96%), длительные (более 21 дня) агранулоцитоз (88%) и лимфоцитопения (75%). Больным с факторами риска инвазивного аспергиллеза показано мониторирование уровня галактоманнана в сыворотке крови методом *Platelia Aspergillus* (два раза в неделю). При положительном тесте и/или наличии клинических признаков необходима компьютерная томография в режиме высокого разрешения органов грудной клетки и придаточных пазух носа. Работа была выполнена в ГОУ ДПО СПбМАПО, научный руководитель – д.м.н. Климко Н.Н.

Диссертационный совет Д208.086.01 создан при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И.Мечникова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию (ГОУ ВПО СПбГМА им. И.И.Мечникова). В декабре 2010 г. в этом совете состоялась защита диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук Авалуевой Е.Б. на тему «Кандидоз кишечника у паци-

* Контактное лицо: Шевяков Михаил Александрович
Тел.: (812) 303-51-46

ентов с гастроинтестинальной патологией (особенности патогенеза, диагностика, лечение, профилактика). Защита проведена по двум специальностям: 14.01.28 – гастроэнтерология и 03.02.12 – микология. Было показано, что частота обнаружения грибов рода *Candida* в кишечнике при заболеваниях верхних отделов пищеварительного тракта (хронический гастродуоденит и язвенная болезнь) варьирует от 25 до 35%, при этом наиболее характерным вариантом существования *Candida* spp. является *Candida*-носительство. При воспалительных заболеваниях нижних отделов пищеварительного тракта (язвенный колит и болезнь Крона) частота встречаемости *Candida* spp. в кишечнике увеличивается до 70% с преобладанием неинвазивного кандидоза кишечника (дисбиоза), который выявляют у 50% пациентов, в то время как у остальных больных имеет место *Candida*-носительство. Также выявили, что назначение антибиотических средств с целью эрадикационной терапии *H. pylori* при хроническом гастродуодените и язвенной болезни способствует увеличению частоты встречаемости *Candida*-носительства и развитию кандидоза кишечника. У пациентов с воспалительными заболеваниями нижних отделов пищеварительного тракта увеличению частоты встречаемости кандидоза кишечника способствует назначение глюкокортикостероидов в схемах лечения.

Молекулярно-генетическим исследованием биоптатов слизистой оболочки желудка и кишечника доказали, что при назначении антибактериальных препаратов модификация генетических свойств дрож-

жевых микромицетов в биотопах пищеварительного тракта отличается возрастанием презентации генов адгезии и инвазии *Candida albicans*, в то время как при назначении глюкокортикостероидных средств возрастает презентация генов инвазии и генов, ответственных за морфологическую трансформацию гриба из дрожжевой формы в псевдомицелиальную. С практической стороны было обосновано, что выбор лечебного воздействия при выявлении кандидоза кишечника у пациентов вышеназванных групп следует осуществлять после определения степени тяжести данного патологического состояния на основании индекса активности кандидоза кишечника. При этом средством лечения первой линии, для пациентов с умеренной и тяжелой степенью тяжести кандидоза кишечника, является нерезорбируемый в кишечнике препарат натамицин, применяемый в дозе 400 мг в сутки в течение 10 дней; пациентам с легкой степенью тяжести возможно назначение пробиотиков на основе *Saccharomyces boulardii* по 1 капсуле 2 раза в сутки или пробиотических препаратов *Lactobacillus*, предписываемых в стандартных дозировках в виде кишечнорастворимых капсул, в течение 14-21 дней. Работа была выполнена при научном консультировании д.м.н. Успенского Ю.П. и д.м.н. Шевякова М.А. на кафедре пропедевтики внутренних болезней с курсами нутрициологии и клинического питания ФПК ГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова».

Все четыре упомянутые выше диссертационные работы утверждены ВАК России.



XX КОНГРЕСС ЕВРОПЕЙСКОЙ АКАДЕМИИ ДЕРМАТОЛОГИИ И ВЕНЕРОЛОГИИ (EADV)

¹Медведева Т.В. (врач-дерматовенеролог)*, ²Леина Л.М. (доцент кафедры)

¹НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова; ²Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия, Россия

© Медведева Т.В., Леина Л.М., 2011

THE 20TH CONGRESS OF EUROPEAN ACADEMY OF DERMATOLOGY AND VENEROLOGY

¹Medvedeva T.V. (dermatovenerologist),
²Leina L.M. (associate professor of the chair)

¹Kashkin Research Institute of Medical Mycology of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, ²State Pediatric Medical Academy, St. Petersburg Russia

© Medvedeva T.V., Leina L.M., 2011

С 20 по 24 октября 2011 года в Лиссабоне (Португалия) проходил XX Конгресс Европейской Академии дерматологии и венерологии (EADV). Заседания проходили в помещении Конгресс-центра Лиссабона (Рис. 1).



Рис. 1. Конгресс-центр Лиссабона

По данным, представленным генеральным секретарем EADV профессором Erwin Tschachler, в

* Контактное лицо: Медведева Татьяна Владимировна
Тел.: (812)303-51-41

мероприятиях, проводимых в рамках Конгресса, за 4 дня приняло участие более 10 тыс. человек из 95 стран. Президент Конгресса доктор Antonio Picoto (Рис. 2) сообщил, что количество выступающих превысило 600 человек.



Рис. 2. Президент Конгресса доктор Antonio Picoto

В речи президента EADV профессора Frank Powell, прозвучавшей на церемонии открытия, были перечислены основные задачи Европейской Академии Дерматологии и Венерологии, такие как: продвижение передовых исследований, образовательных и обучающих методик в области дерматовенерологии, а также обеспечение высочайшего качества обучения членов дерматовенерологического сообщества в сопряженных областях медицины и других отраслей научных знаний. Среди ключевых моментов, обсуждаемых на Конгрессе в этом году, были следующие темы: онкогенные вирусы, лечение врожденных заболеваний кожи и лазерные технологии в дерматологии.

Вопросы клинической микологии были обсуждены на симпозиуме «Поверхностные и глубокие грибковые инфекции», состоявшемся 22 октября. В сообщении, сделанном Ginter-Hanselmayer G. (Австрия), посвященном заболеваниям кожи и ее придатков, вызванных грибами рода *Microsporum*, интерес представляли собственные клинические наблюдения случаев микроспории волосистой части головы у пожилых людей. Также был представлен клинический вариант микроспории, протекавшей в виде онихомикоза у ВИЧ-инфицированного взрослого пациента. Особое внимание в докладе было уделено микроспории, этиологически связанной с редко встречающимися возбудителями, – зоофильным грибом *Microsporum persicolor* и геофильным – *Microsporum praecox*. Сообщение Piraccini V.M. (Италия) было посвящено сложностям в лечении онихомикозов. Докладчицей были выделены три направления, которые затрудняли терапию грибковых поражений ногтей: клинические особенности (например, в случае дерматомикомы), выделение особых возбудителей (грибы рода *Scytalidium*, *Scopulariopsis*, *Fusarium*); фоновые состояния пациентов. Faergemann J. (Швеция) сообщила о популярной в последние годы теме взаимосвязи атопического дерматита с дрожжеподобными грибами рода *Malassezia*. Было уделено внимание

роли *Malassezia* spp. в развитии кожной патологии: отрубевидного лишая, фолликулита, себорейного дерматита, псориаза. Приведены доказательства взаимозависимости ряда вариантов атопического дерматита, особенно – при локализации на голове и верхней половине туловища, и *Malassezia* spp. В своем выступлении, связанном с двадцатилетним опытом применения системных антифунгальных препаратов, Elewski В. (США) затронула вопросы лечения таких нозологических форм как ониомикозы, микозы волосистой части головы, слизисто-кожный кандидоз и отрубевидный лишай. Был проведен обзор накопленных данных по применению тербинафина, итраконазола, флуконазола, вориконазола, а также новых системных антифунгальных препаратов – позаконазола и албаконазола. Интерес вызвала информация, касающаяся возможности применения албаконазола в терапии ониомикозов. С программным сообщением о микозах и ВИЧ-инфекции в эпоху антиретровирусных препаратов выступил Нау R. (Великобритания).

Значительный удельный вес заняли вопросы микологии на заседании ENS (European Nail Society),

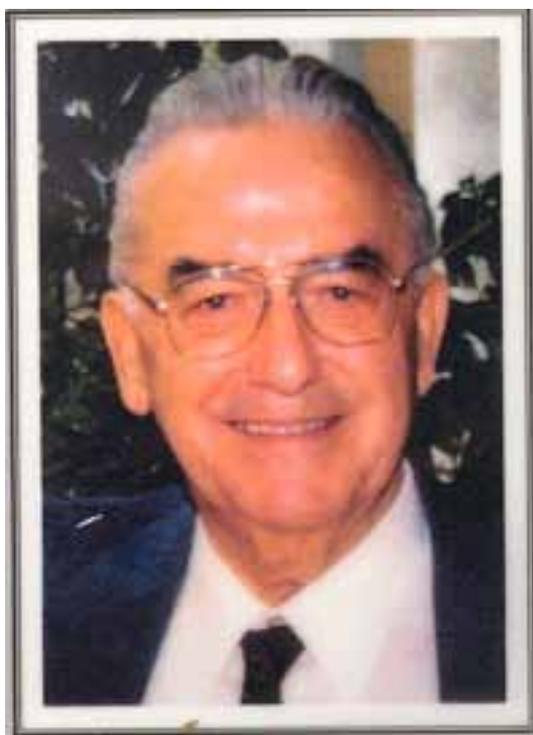
состоявшемся в рамках Конгресса. Обширные доклады по лечению ониомикозов сделали Vagan R. (Франция) и Shermer A. (Израиль). Авторов данной публикации особенно заинтересовало сообщение Rigououlos D. (Греция), который выступил с обзором, посвященным топическому лечению ониомикозов, и представил такие новые альтернативные методики лечения, как фотодинамическая терапия, лазеротерапия, ионофорез антифунгальных средств и микродрилинг (последний достаточно широко используют за рубежом как адъювантный способ забора материала из ногтевых пластинок при проведении микологических тестов). Также в этом докладе были доложены результаты применения нового топического средства для лечения ониомикоза, содержащего тербинафина гидрохлорид, в форме лака (mucova laquer) у 1029 пациентов и возможность использования вещества SCH 900340/AN2690 в связи с его высокой проникающей способностью в ногтевую пластинку и широким спектром противогрибковой активности.

Очередной, XXI Конгресс EADV, планируют провести в Праге (Чехия) в сентябре 2012 года.



ПАМЯТИ ДОКТОРА МЕДИЦИНСКИХ И ВЕТЕРИНАРНЫХ НАУК ПРОФЕССОРА ФРИДРИХА ШТАЙБА

MEMORIES OF THE DOCTOR OF MEDICAL AND VETERINARY SCIENCES PROFESSOR FRIEDRICH STAIB



18 октября 2011 г. в возрасте 86 лет ушёл из жизни замечательный немецкий учёный – микробиолог Ф. Штайб. В кругу микробиологов и, особенно, медицинских микологов широко известны его работы с криптококками и соответствующая дифференциально-диагностическая среда Штайба. В 60-е годы XX в. он начал исследования протеолиза субстратов ферментами *Candida albicans* и по выяснению их роли в патогенезе и диагностике кандидоза. Теперь эти исследования продолжают ученики проф. Ф. Штайба, стремящиеся определить локусы генов, отвечающих за синтез отдельных протеиназ. Примечателен и тот факт, что его младший сын Петер – ныне молекулярный биолог в области медицинской микологии

– продолжил дело отца и трудится в Вюрцбургском университете (в институте молекулярной биологии инфекций). В 1968 г. проф. Ф. Штайб был приглашён в институт им. Роберта Коха в Берлине, а уже в 1976 г. Сенат Берлина наградил его престижной премией Аронсона Прайса.

В 1978-1983 гг. Ф. Штайб провёл широкий цикл исследований с *Aspergillus fumigatus*, обнаружив его в ризосфере некоторых комнатных растений вместе со стрептомицетом, продуцирующим антибиотикополиены. Тогда же он предложил термин «Indoor Air Mycology», связанный с двумя другими «Sick Building Disease» и «Outdoor Fungal Disease», известные теперь микологам.

Более 20 лет Ф. Штайб возглавлял отдел микологии в институте им. Р. Коха и 14.06.1990 г., в связи с его официальным выходом на пенсию, состоялась Международный симпозиум под девизом: «Роль грибковых инфекций не останется недооценённой». На симпозиуме было подчёркнуто, что научные достижения проф. Ф. Штайба были основополагающими для многих учёных в различных странах, что существует насущная необходимость междисциплинарной кооперации для диагностики и лечения грибковых заболеваний.

В последующие годы он проявил заметную активность по изысканию путей и способов налаживания совместной работы с коллегами из России. В 1994 г. он был отмечен премией ISHAM и избранием почётным членом этого международного общества. 17 октября 1997 г. на заседании Санкт-Петербургского отделения ВНПОЭМП им. И.И. Мечникова выдающийся немецкий учёный проф. Фридрих Штайб был избран почётным членом общества.

Проф. Ф. Штайб дважды участвовал в международных микологических конференциях, проводившихся в Санкт-Петербурге. Он был постоянным членом научно-редакционного совета нашего журнала «Проблемы медицинской микологии» со времени его организации и издания в 1999 г., и с ним постоянно поддерживалась связь.

Потеря выдающегося учёного, коллеги и друга является невосполнимой для науки и всех людей, близко или отдалённо общавшихся с ним, тем более – для его родных; коллектив сотрудников НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, редколлегия и члены научно-редакционного совета нашего журнала выражают всем им искренние соболезнования в связи с невосполнимой утратой.

Считаю возможным представить здесь фотоснимок десятилетней давности семьи Ф. Штайба, на котором слева направо стоят три сына – младший Петер, старший Фриц (архитектор), средний Ёрг (дипломированный инженер-конструктор), их мать фрау Ханни – супруга Ф. Штайба (крайнего справа). Снимок выполнен за 10 минут до защиты диссертации Петером Штайбом.

О взаимоотношениях и уважительной «атмосфере» в данной полноценной «ячейке» между её членами полнообъемно отражено в приведенном ниже некрологе, составленном ближайшими родными и родственниками:

«Господь Бог призвал моего любимого мужа, нашего любимого отца, свёкра, дедушку, дядю и двоюродного брата

Prof. Dr. med. Dr. med. vet.

Friedrich Staib

04.08.1925-18.10.2011

к вечной жизни.

Господь был ему добрым пастырем по долгой, бурной и успешной жизни. Она была запечатлена любовью к близким, но также, особенно, к науке, исследованию и обучению. Мы скорбим, но благодарны за то, что мы так долго были с ним. Твоя Ханни, Твои сыновья Фридрих и Бернадетта, Ёрг и Даниелла с Джулиусом и Ниной, Петер и Клаудиа с Генри и родственники. Sommerhausen. Sulzfeld am MainBad Boll, 18.10.2011»

«Мир праху твоему, Фридрих Штайб!»

Н.П. Елинов



ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ В ЖУРНАЛ «ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ»

Журнал «Проблемы медицинской микологии» нацелен на публикацию оригинальных, ранее не опубликованных в других изданиях в России или за рубежом, статей, научных обзоров, дискуссий, рецензий на книги, методических разработок, хроники и информации. Предварительные сообщения не принимаются. Статьи необходимо сопровождать направлением от учреждения (-й), в котором (-ых) выполнена работа.

Каждый автор может представить не более 2-х статей в один номер журнала.

Статьи представляются на русском языке с обязательным расширенным резюме на английском языке объемом не более 20 строк. Можно представлять статьи на английском языке с рефератом на русском языке в объеме до 20 строк.

Статьи представляются в редакцию по почте с приложением диска (с распечаткой текста на бумаге в 2-х экземплярах) или по электронной почте (mycobiota@spbmapo.ru), подготовленными в текстовом редакторе Win Word. Статьи должны быть напечатаны шрифтом № 12 через 1,5 интервала. Все страницы должны быть пронумерованы.

Размер рукописей не должен превышать 12 машинописных страниц, включая рисунки, таблицы, фотографии и подписи к ним, список цитированной литературы, представляемые на отдельных листах. Количество иллюстраций не должно превышать двух страниц при их плотном размещении друг к другу.

Рукопись статьи подписывается автором (соавторами), на отдельной странице написать ф.и.о. (полностью) одного из авторов, его должность, адрес электронной почты (для связи) и номер телефона.

Правила оформления статей:

Сначала пишется название статьи заглавными буквами (шрифт 12 – жирный). Затем через 2 интервала указываются фамилии авторов, инициалы и должности (шрифт 12 – жирный). Далее через 2 интервала пишется название учреждения, в котором выполнена работа. Затем через 2 интервала печатать резюме на русском языке (без написания слова «резюме»). Через 2 интервала указать до 7 ключевых слов. Затем через 2 интервала (шрифт – 12) пишется заголовок на английском языке, фамилии, инициалы и должности автора (-ов), резюме (без написания слов «abstract, summary») и ключевые слова (не более 7).

Затем через 3 интервала и с красной строки пе-

чатать текст статьи в следующем порядке: краткое введение, материалы и методы, результаты и их обсуждение, выводы, цитированная литература.

Латинские названия грибов необходимо писать курсивом; если в заголовке названы род и вид гриба, то после него следует указывать автора, впервые писавшего вид (например, *Aspergillus fumigatus* Fres.); в тексте такая форма уже не повторяется и при повторном упоминании гриба название рода сокращают до первой буквы (например, при первом написании в тексте *Aspergillus fumigatus*, при повторениях - *A. fumigatus*).

Автор (-ы) вида должен (-ны) быть указан (-ы) не только в заголовке к статье, но и при первом упоминании в тексте (если нет этого в заголовке) и в возможном списке видов. В подписях к рисункам и в надписях к таблицам полные названия рода и вида приводятся один раз.

Названия учреждений при первом упоминании в тексте даются полностью, и сразу же в скобках приводят их принятые сокращения, которыми пользуются в последующем тексте статьи, например, Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования (ГОУ ДПО СПб МАПО), Московская государственная медицинская академия им. И.М. Сеченова (ММА им. Сеченова) и т.д.

Четко писать и различать О, о, и 0 (ноль), 1 и I (единицу и заглавную латинскую И), I и J, q и g, заглавные буквы О по-русски и Q по-английски. Подстрочные примечания должны иметь сквозную нумерацию по всей статье. Содержание таблиц не должно дублировать текст. Таблицы должны иметь порядковые номера, если их больше одной. Текст таблиц печатать через 2 интервала.

Все термины, употребляемые в статье, должны строго соответствовать действующим номенклатурам (анатомической, гистологической и т.д.), названия лекарственных средств - Государственной Фармакопее, единицы физических величин - международной системе единиц (СИ).

В тексте при ссылке на работу иностранных авторов их фамилии приводятся в русском написании и рядом в скобках - в оригинальном написании с указанием года опубликования работы, например: «Штайб (Staub, 1992) наблюдал...». Ссылки на работы располагать в хронологическом порядке годов опубликования работ.

Литература, упоминаемая в тексте (не должна быть старше 10 лет), приводится списком в конце статьи в том порядке, в котором она цитирована в тексте работы; соответствующие номера статей проставляются в тексте в квадратных скобках.

Рисунки (фото) должны иметь порядковые номера, на которые следует ссылаться в тексте статьи. Рисунки (фото) прилагаются в отдельном конверте (фотоснимки - в двух экземплярах) или в электронном виде. На микрофотографиях изображается масштаб, в подписях к ним необходимо указывать собственные увеличения объектива и окуляра, и, возможно,

коэффициент усиления увеличения за счет дополнительных оптических приспособлений (например, для некоторых бинокулярных микроскопов $\times 1,5$). На обороте рисунка указываются мягким карандашом без нажима фамилия автора, номер и желательное уменьшение рисунка (фото), верх рисунка.

Для статей, написанных на английском языке, литература, цитируемая в тексте и приводимая в списке, должна быть представлена в английском переводе, например: *Брондз Б.Д.* Т-Лимфоциты и их рецепторы в иммунологическом распознавании. – М.: Наука, 1987. – 472 с. *Brondz B.D.* T-Lymphocytes and their receptors in the immunological recognition. – Moscow: Science, 1987. – 472 p. (in Rus).

Оформление списка литературы.

Для книг указываются фамилии и инициалы авторов, название книги, место издания (город), издательство, год, общее количество страниц, например: *Беккер З.Э.* Физиология и биохимия грибов. – М.: Изд-во МГУ, 1988. – 216 с. Для статей, опубликованных в журналах, указываются фамилии и инициалы авторов, название статьи, название журнала, год, том, номер, первая и последняя страницы статьи, например: *Антонюк В. А.* Характеристика лектина из плодовых тел *Boletus Luridus* Schff.ex, Fr. // Микология и фитопатология. – 1997. – Т. 31, Вып. 1. – С. 35-41.

Для статей, опубликованных в сборниках, указываются фамилии и инициалы авторов, название статьи, название сборника, место издания (город), изда-

тельство, год, первая и последняя страницы статьи, например: *Пармасто Э.* Жизненные формы высших базидиальных грибов // Проблемы изучения грибов и лишайников. – Таллинн: Изд-во АН ЭССР, 1965. – С. 64-68.

Для авторефератов диссертаций, например: *Аванесов С. Г.* Биологические основы отбора вирулентных штаммов энтомопатогенного гриба *Verticillium lecanii* Zimm: Автореф. дисс...канд. биол. наук. – Л., 1987. – 19 с.

Редакция оставляет за собой право сокращать статьи и вносить редакционные исправления.

В случае возвращения автору рукописи статьи на переработку дата ее поступления сохраняется в течение 4 месяцев. При отклонении работы статья не подлежит возвращению автору.

В конце статьи, принятой к публикации, приводится фамилия рецензента.

Частота выпуска журнала: 1 номер в квартал, 1 том в год.

Все статьи публикуются БЕСПЛАТНО.

По вопросам размещения рекламы обращаться по адресу редакции (см. ниже).

Вся корреспонденция направляется по адресу: 194291, Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, 1/28, НИИ ММ им.П.Н.Кашкина СЗГМУ.

Тел: (812) 303-51-45; тел./факс: (812) 510-62-77

E-mail: mycobiota@spbmapo.ru; egukova@mail.ru

Заведующая редакцией: Гукова Елена Станиславовна

ВНИМАНИЮ АВТОРОВ СТАТЕЙ!

Направляя статью для размещения в журнале ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» (далее – Университет) «Проблемы медицинской микологии» автор статьи предоставляет Университету право использовать статью в любой форме и любым способом, предусмотренными п. 2 ст. 1270 Гражданского Кодекса Российской Федерации, в том числе: воспроизведение статьи; распространение статьи путем продажи или иного отчуждения его оригинала или экземпляров; сообщение в эфир; сообщение по кабелю; перевод или другая переработка статьи; доведение статьи до всеобщего сведения; передача права использования статьи третьим лицам (сублицензионный договор); извлечение и обработка метаданных статьи.

Автор статьи гарантирует, что он является обладателем передаваемых Университету прав (правообладателем).

Территория, на которой допускается использование прав на статью, не ограничена.

Передача прав на статью осуществляется без выплаты автору статьи вознаграждения.

Университет вправе использовать статью в течение срока действия исключительного права правообладателя на статью.

Автор предоставляет Университету право обработки своих персональных данных.

В связи с вышеизложенным, редакционная коллегия журнала «Проблемы медицинской микологии» просит авторов, **вместе с сопроводительным письмом от организации, присылать бумагу с текстом следующего содержания:**

«Направляя статью для размещения в журнале ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» (далее – Университет) «Проблемы медицинской микологии» я _____ (указать ФИО) предоставляю Университету право использовать мою статью _____ (название статьи) в любой форме и любым способом, указанном в «Правилах предоставления рукописей авторами» журнала «Проблемы медицинской микологии».

Сопроводительное письмо к статье должно быть написано и подписано собственноручно автором статьи.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ПРИКАЗ

от 23 июня 2011 г. № 609

о реорганизации государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования "САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМЕНИ И.И. МЕЧНИКОВА" Министерства Здравоохранения и Социального Развития Российской Федерации и государственного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования "САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ ФЕДЕРАЛЬНОГО АГЕНТСТВА ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ И СОЦИАЛЬНОМУ РАЗВИТИЮ" в форме слияния с образованием государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования "СЕВЕРО-ЗАПАДНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.И. МЕЧНИКОВА" Министерства Здравоохранения и Социального Развития Российской Федерации/

27-28 ИЮНЯ 2012 г.

СОСТОИТСЯ

**ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
ПО МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ (XV КАШКИНСКИЕ ЧТЕНИЯ)**

Оргкомитет Конференции:

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина ГБОУ ВПО ЗЗГМУ им. И.И. Мечникова

<http://www.spbmapo.ru>

e-mail: mycoconference@spbmapo.ru

тел./факс (812) 303-51-40

194291, Россия, Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, 1/28.



**Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (СЗГМУ)
Научно-исследовательский институт медицинской микологии им. П.Н.Кашкина (НИИ ММ) СПб МАПО**
Адрес редакции: 194291, Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, 1/28. Тел.: (812) 303-51-45, факс (812) 510-62-77
E-mail: mycobiota@spbmapo.ru. Заведующая редакцией: Е.С.Гукова.

**North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov
Kashkin Research Institute of Medical Mycology**

Address of Editorial Office: Santiago-de-Cuba str., 1/28, Saint Petersburg, 194291, RUSSIA. Tel.: (812) 303-51-45, Fax (812) 510-62-77
E-mail: mycobiota@spbmapo.ru. Manager of Editorial Office: E.S.Gukova

«ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ»

Per. № 77-1396 от 20.12.1999 г. ISSN 1999-6780

Журнал включен в реферативный журнал и базы ВИНТИ.

Сведения о журнале ежегодно публикуются в международной системе по периодическим и продолжающимся изданиям
«Ulrich's Periodicals Directory».

Оригинал-макет — НИИ «Медицинской микологии им. П. Н. Кашкина СЗГМУ».

Подписано в печать 18.01.2012. Формат 60×90 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Times. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 7,5. Тираж 999 экз.



*Уважаемые читатели журнала
«Проблемы медицинской микологии»!
От имени редакционной коллегии*

*Поздравляем Вас с Новым 2012 годом
и Рождеством!*

*Здоровья, радости и счастья
Всем желаем в Новый год!
А тревоги и ненастья
Не кружились у ворот.
Чтобы солнышко светило,
Согревало всё и всех.
Веселее в жизни было
Любить, творить и слышать смех!*