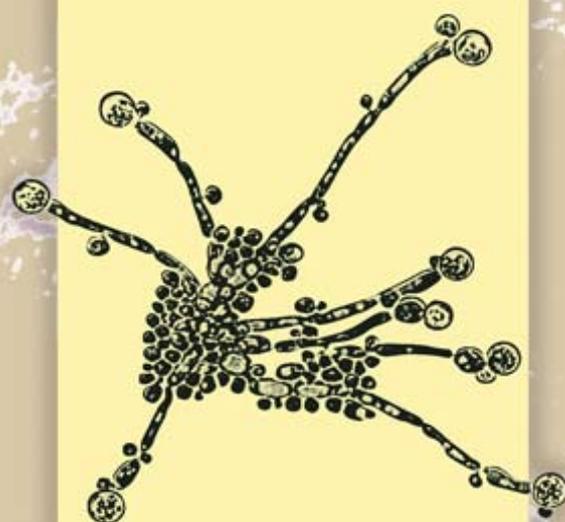


ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 17 №2



Problems in medical mycology

Vol.17 №2

2015

Лоцерил®

а м о р о л ф и н

Лак для лечения
и профилактики
грибка ногтей



Лоцерил®

- Убивает грибок там, где другим недоступно²
- Применяется всего 1 раз в неделю!³

Подробнее на сайте www.loceryl.ru

1. По данным IMS Health за май 2013 – апрель 2014 по продажам в сегменте топических лекарственных средств в деньгах; 2. Polak A. et al. Agar sublimation test for the in vitro determination of the antifungal activity of morpholine derivatives. *Mycosis*, 2004, 47, 184-92; 3. Инструкция по медицинскому применению препарата Лоцерил.

1/15/002

ООО «Галдерма» 125284, Москва,
Ленинградский пр-т, д 31 А, стр 1, 21 этаж,
Телефон/факс +7 (495) 540 5017
www.galderma.ru

GALDERMA
Committed to the future
of dermatology

RiboPrinter® производства DuPont™



The miracles of science™

универсальная автоматизированная система для идентификации бактерий

Более 7000 штаммов,
1440 видов,
около 200 родов бактерий
охарактеризованы системой и
внесены в базу данных
RiboPrinter®



Отбор образца



Получение
изолята



Лизис

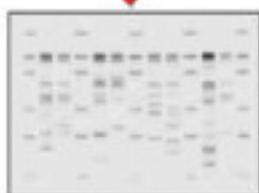


Загрузка
RiboPrinter®

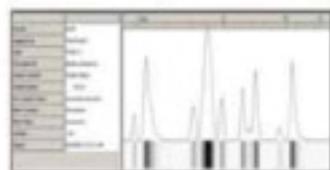
RiboPrinter® производит
автоматическую
обработку образца
методом ПДРФ
(полиморфизм длины
рестрикционных
фрагментов) и нацелен
на последовательность
генов rPHK - 5S, 16S и
23S (около 6500 п.н.)



Загрузка до 8 образцов одновременно, обработка – 8 ч,
возможность дозагрузки еще 8 образцов через 2 ч



Система RiboPrinter® фиксирует уникальный набор
выявленных фрагментов, оцифровывает его в виде
RiboPrint™



Система позволяет сопоставить RiboPrint™ с
любыми другими из базы данных RiboPrinter® или с
полученными из других образцов (с разных мест
отбора или отобранных в разное время)

Пример использования
RiboPrinter® в клинике –
риботипирование
патогенных
микроорганизмов
на устойчивость к
антибиотикам



- Смыслы с оборудованием
- Образцы головной продукции
- Образцы исходных материалов
- Пробы воздуха

Пример использования RiboPrinter® на
производстве - идентификация,
локализация источника контаминации
и мониторинг безопасности по
контрольным точкам системы НАССР



НИАРМЕДИК

ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС»
125252 Москва, ул. Авиаконструктора Микояна, 12,
офисный центр «Линкор», корпус А, 1 подъезд, 2 этаж
Тел.: +7(495) 741 49 89 Факс: +7(495) 193 43 50
E-mail: info@nearmedic.ru www.nearmedic.ru



УСТРОЙСТВО ДЛЯ ПРОТИВОГРИБКОВОЙ ОБРАБОТКИ ОБУВИ «ТИМСОН»

- Уничтожит грибок
- Уничтожит бактерии

Клинически доказано,
эффект достигается
после 4-6 часов
обработки обуви.



Рекомендовано
Минздравом России

Тел.: +7 (495) 787-44-17

Сайт: gribkov.net

Спрашивайте в аптеках города!

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

N.A. Belyakov — M.D., academician of RAMS, prof. (Russia), J. Bennett — M.D. (USA), S.A. Burova — M.D., prof. (Russia), B. Dupont — M.D. (France), O.G. Hurzilava — M.D., prof. (Russia), V.I. Golubev — Ph.D. (Russia), Z.O. Karayev — M.D., prof. (Azerbaijan), K.P. Kashkin — M.D., academician of RAMS, prof. (Russia), V.G. Kubas' — M.D., prof. (Russia), A.V. Lipnizky — M.D., prof. (Russia), V.I. Mazurov — M.D., academician of RAMS, prof. (Russia), Iu.A. Medvedev — M.D., prof. (Russia), A.K. Mirzabalaeva — M.D., prof. (Russia), S.M. Ozerskaya — Ph.D. (Russia), I. Polachek — M.D. (Israel), Ye.V. Pronina — M.D., prof. (Russia), 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), N.V. Shabashova — M.D., prof. (Russia), M.A. Shevyakov — M.D., prof. (Russia), A.V. Sobolev — M.D., prof. (Russia), A.A. Stepanova — Ph.D. (Russia), 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. 17, № 2, 2015

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

ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 17, № 2, 2015

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. Климов — д.м.н., профессор (Россия)

Ответственный секретарь —

Т.С. Богомолова — к.б.н. (Россия)

НАУЧНО-РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Н.А. Беляков — д.м.н., акад. РАМН, профессор (Россия),
Дж. Беннетт — доктор медицины (США), С.А. Бурова —
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),
З.О. Караев — д.м.н., профессор (Азербайджан),
К.П. Кашкин — д.м.н., академик РАМН, профессор
(Россия), В.Г. Кубась — д.м.н., профессор (Россия),
А.В. Липницкий — д.м.н., профессор (Россия),
В.И. Мазуров — д.м.н., акад. РАМН, профессор
(Россия), Ю.А. Медведев — д.м.н., профессор (Россия),
А.К. Мирзабалаева — д.м.н., профессор (Россия),
С.М. Озерская — д.б.н. (Россия), И. Полачек —
доктор медицины (Израиль), Е.В. Пронина — д.м.н.,
профессор (Россия), 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),
А.А. Степанова — д.б.н. (Россия), Х.И. Титц — доктор
медицины (Германия), Т.Н. Трофимова — д.м.н.,
профессор (Россия), О.Г. Хурцилава — д.м.н., проф.
(Россия), В.А. Цинзерлинг — д.м.н., профессор
(Россия), Н.В. Шабашова — д.м.н., профессор (Россия),
М.А. Шевяков — д.м.н., профессор (Россия)

Проблематика журнала: Фундаментальные и прикладные аспекты медицинской микробиологии — биология возбудителей, клиника, диагностика, эпидемиология, иммунитет, терапия и профилактика инфекций, микроорганизмы-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 infections, microorganisms — contaminants in laboratory, clinical and other conditions.

СОДЕРЖАНИЕ

ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ И ОБЗОРЫ

Рябинин И.А., Васильев О.Д., Батаева К.Д., Ершова А.И. Глиотоксин (краткий обзор)8

КЛИНИЧЕСКАЯ МИКОЛОГИЯ

Богданов А.Н., Семелев В.Н., Тараканова Л.А., Живописцева А.М., Клишко Н.Н., Шадринова О.В., Бологов С.Г., Богомолова Т.С., Игнатъева С.М., Тыренко В.В. Случай диссеминированного инвазивного аспергиллеза у больного острым лейкозом со смешанным фенотипом и нейролейкозом12

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МИКОЛОГИЯ

Журавлева Н.П., Елинов Н.П., Васильева Н.В., Соловьева Г.И., Босак И.А. Литический эндофактор у микромицетов, составляющих банк культур – продуцентов аллергенов15

Степанова А.А., Васильева Н.В., Босак И.А., Котрехова Л.П. Влияние изоконазола на ультраструктуру клеток культур *Staphylococcus aureus* (SA1) и *Staphylococcus haemolyticus* (SH1)20

РОССИЙСКО-КИТАЙСКАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ ПО МЕДИЦИНСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И КЛИНИЧЕСКОЙ МИКОЛОГИИ (XVIII КАШКИНСКИЕ ЧТЕНИЯ)

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

- Changyou Wu*. Memory IL-22-producing CD4+ T cells specific for *Candida albicans* are present in humans 25
- Di Li, Xin-Ling Pan, Jia-Yi Cui, Jing-Li Wang, Gao-Xiang Sun, Chun-Lei Zhang, Bin-Ying Ji, Chie Nakajima, Chang-Xia Shao, Cai-Bo Dong, Liu-Zhuo Zhang, Toshio Hattori, Min Zhuang, Hong Ling*. Primary drug resistance and the genotype distribution of *Mycobacterium tuberculosis* in Heilongjiang Province, China 25
- Fengmin Zhang, Hongxi Gu, Dianjun Li*. Anti-tumor effects of the human monoclonal anti-nuclear antibody on the HEP-2 cells 25
- Hongxi Gu, Yanxiu Ma, Yong Fang*. The role of Moloney leukemia virus 10 in hepatitis B virus expression in hepatoma cells 25
- James O. Ogutu, Qingmeng Zhang, Ying Huang, Wenli Zhang, Jizi Zhao, Wenhui Cai, Wenjing Li, Yang Chen, Wuqi Song, Xiaobei Chen, Yingmei Fu, Fengmin Zhang*. Evaluation of the contribution of bla genes in β -lactam-resistant clinical *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains based on a newly developed multiplex PCR system 26
- Jianxun Yang, Pei Yu, Zhe Wan, Ruoyu Li, Fengmin Zhang*. Effect of methotrexate on the commonly used antifungals against *Aspergillus*, *Candida* and *Mucor* species 26
- Jia-Ye Wang, Yan Li, Min Zhuang, Hao-Tong Yu, Dan Tian, Cai-Xia Guo, Ming-Xia Wang, Li Yuan, Song Liu, Cai-Yun Ren, Feng-Min Zhang, Hong Ling*. Characterization of envelope glycoproteins from HIV-1 infected broad neutralizers and the immunogenicity of envelope glycoproteins 26
- JIN Aishun*. Generation of human monoclonal antibody from human peripheral blood lymphocytes 26
- Jizi Zhao, Jie Chen, Wenli Zhang, Xiaobei Chen, Yingmei Fu and Fengmin Zhang*. Multi-locus sequence type (MLST) contributes to determine the level of virulence of *Klebsiella pneumoniae* isolated from community acquired infection cases 27
- Lanjuan Li*. Human Gut Microecology and Infectious Disease 27
- Lei Cui, Haiying Wang, Yanxi Ji, Xingyu Huang, Zidao Wang, Shan Xu, Yu Chen, Deyin Guo*. The nucleocapsid protein of coronaviruses acts as viral suppressor of RNA silencing in mammalian cells 27
- Lei Tong, Chaoyu Sun, Hui Wang, Zhiwei Guo, Yan Wang, Lexun Lin, Xueqi Li, Zhaohua Zhong*. Altered circulating microRNA expression in mice infected with Coxsackievirus B3 27
- Mengfeng Li*. NF- κ B signaling in pathogenesis of viral infection 27
- Min Zhuang, Wei Wang, Hong Ling and Carol D. Weiss*. Escape pathways of HIV-1 X4 tropic viruses that are resistance to peptides corresponding to the N-heptad repeat region (HR1) of Gp41... 28
- Ming Li, Dianbin Yang, Lu Mei, Ao Xie, Jieli Yuan*. Screening and characterization of purine nucleoside degrading lactic acid bacteria isolated from Chinese sauerkraut and evaluation of the serum uric acid lowering effect in hyperuricemic rats 28
- Mintao Zhong, Min Huang*. Exploration and development of functional genomics with antitumor function from *Lentinula edodes* C91-3 transcriptome by deep Solexa sequencing. 28
- Shuxia Ma*. Investigation of the regulatory effects of purlane polysaccharide on the intestinal microecology and the immunity in ulcerative colitis mice 28
- Sidong Xiong, Bo Gao*. Innate immunity against HBV infection, role and mechanism of TRIM22 29
- Wei Xu, Qian qian*. TLR13 innate immunity in CVB3 acute myocarditis . 29
- Weizhe Zhang, Wei Zhao, Fengkun Yang, Longxian Zhang, Yujuan Shen, Jianping Cao, Rongjun Wang, Aiqin Liu, Hong Ling*. Genotyping and subtype analysis of animal-derived *Cryptosporidium*, *Giardia duodenalis* and *Enterocytozoon bieneusi* isolates as well as evaluation of zoonotic transmission. 29
- Wenkai Yu, Xiaopeng Yuan, Xingche Xu, Li Tang, Yuejian Liu, Rui Ding, Liyuan Pang, Jin Zhang, Yinhui Liu, Huajun Li, Ming Li, Yanjie Guo, Shu Wen*. Airway dysbiosis in early life is associated with elevated allergic respiratory inflammation 29
- Xu Teng, Lijuan Fu, Yanxiu Ma, Hongxi Gu*. The mutations analysis of the reverse transcriptase domain of HBV polymerase in nucleoside analogues cross-resistant patients 30
- Yan Wang, Tianying Wang, Lei Tong, Lexun Lin, Weizhen Xu, Sijia Chen, Lanlan Wei, Zhaohua Zhong*. Inhibitor of growth 4 expression decreased in cervical cancer tissues 30
- Yihong Peng*. Distinct effects of different isoforms of host canonical MEK-ERK pathway on viral amplification 30
- Ying Wang, Shu Wen, Yin-Hui Liu, Yan-Jie Guo, Jing Wang, Li Tang*. Alterations of intestinal microflora in the Irritable Bowel Syndrome patients. 30
- Yingmei Fu, Rui Sun, Zhiwei Zhang, Ogutu O. James, Wenjing Li, Wenli Zhang, Jizi Zhao, Fengmin Zhang*. Small RNA regulates the bactericidal activity of ciprofloxacin against *Escherichia coli*. 31
- Yong Fang, Sijia Chen, Yanxiu Ma, Xu Teng, Weizhen Xu, Hongxi Gu*. Molecular epidemiology and mechanisms of occult HBV infection in north of China 31
- Yonghua Zhou and Xiaoling Fan*. Interaction between *Toxoplasma gondii* and host cell 31
- Yu Zhang*. Id1 Expression promotes T regulatory cell differentiation by facilitating TCR costimulation. 32
- Yujun Li, Lan Sun, Cuiyu Liu, Fengmin Zhang*. Borna disease virus induce autophagy in oligodendroglial cells 32
- Zhibo Xiao*. TGF- β 1 regulates FASL by targeting miR-21 in keloid fibroblast 32
- Абаев И.В., Скрябин Ю.П., Коробова О.В., Дятлов И.А.* Характеристика штаммов *Staphylococcus aureus* – возбудителей пищевых токсикоинфекций и стафилодермии новорожденных, изолированных в России в 2012-2014 гг. 32
- Абрамовских О.С., Зотова М.А., Алехина К.А., Прокопьев Д.С.* Вирусная нагрузка как фактор персистенции папилломавирусной инфекции репродуктивного тракта женщин 33
- Абрамовских О.С., Летяева О.И., Прокопьев Д.С., Зиганшин О.Р.* Эпидемиологические аспекты папилломавирусной инфекции у мужчин 33
- Абраров Р.А., Ахтариева А.А., Камалова А.А.* Изучение ДНК-азной и α -гемолитической активности у клинических штаммов бактерий рода *Enterobacter*. 34
- Абсалямов А.Р.* Возбудители бактериальных циститов и их антибиотикочувствительность 34

Азнабаева Л.М. Роль <i>Staphylococcus warneri</i> в формировании микробоценоза слизистой оболочки миндалин	35	Бондаренко Е.В., Гусакова Е.Б., Лапа Т.М. Мониторинг выделенности <i>Candida</i> spp. в Воронежской областной клинической больнице №1 в 2012-2014 годах	47
Акжигитов А.С., Пашкова Т.М., Карташова О.Л. Антилизотическая активность микроорганизмов – возбудителей отитов у собак	35	Бондаренко Е.В., Коровина Е.В. Анализ распространенности возбудителей ИППП у пациенток отделений патологии беременных №2 и №3 в 2014 г.	48
Александрова Н.А., Заславская М.И., Суворов А.Н. Влияние различных фракций метаболитов <i>Enterococcus faecium</i> на адгезивную способность <i>Candida albicans</i>	36	Боронина Л.Г., Блинова С.М., Ковалева У.И., Чикова Е.В. Этиологическая структура и антибиотикорезистентность основных возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний в послеродовом периоде	48
Алешукина А.В., Бусленко А.О., Пшеничная Н.Ю., Алешукина И.С., Костенко О.Д. Цитокиновый профиль у людей с острыми кишечными инфекциями	36	Боронина Л.Г., Блинова С.М., Кукушкина М.П., Устюгова С.С., Панова С.А. Ускоренные методы диагностики инфекций мочевыделительной системы у детей	49
Алиева А.А., Харсеева Г.Г., Алексеева Л.П., Лабушкина А.В., Воронина Н.А. Адгезивная активность <i>Coagulobacterium diphtheriae</i>	37	Буравкова А.Г., Новикова Л.А., Демьянова О.Б. Терапия кандидозных онихий и паронихий кистей «Кандитралом»	50
Альховик О.И., Дымова М.А. Выявление нетуберкулезных микобактерий в Сибирском регионе	37	Бялик Л.Р. Онихомикозы: современные подходы к лечению	50
Андреева И.А., Смотрова Н.Г. Стратегия использования антибактериальных препаратов на современном этапе	38	Вакараева М.М., Нечаева О.В., Тихомирова Е.И., Ульянов В.Ю., Лулева И.О., Заярский Д.А. Зависимость антимикробной активности полиазолидинаммония, модифицированного (ПААГ-М) от физико-химических характеристик полимерного соединения	50
Андреева И.Д., Осолодченко Т.П., Лукьяненко Т.В., Завада Н.П. Проблема полиантибиотикорезистентности возбудителей внебольничных инфекций	38	Васильева Н.Р., Вязовая А.А., Мясникова Е.Б., Журавлев В.Ю., Нарвская О.В. Эпидемиологический анализ случаев туберкулеза с рецидивирующим течением	51
Андреева И.Д., Щербак О.Н. Противомикробная активность нового производного тионов пиридо[4',3':5,6]пирано[2,3-D]пиримидина	38	Викulina В.И., Бондаренко Е.В., Боброва Т.М., Полуказакова Н.В. Особенности микробного пейзажа у новорожденных в перинатальном центре в 2014 г.	52
Андреева И.С., Сафатов А.С., Соловьянова Н.А., Буряк Г.А., Емельянова Е.К., Вечканов В.А., Селиванова М.А. Скрининг аэрозолей атмосферного воздуха Западной Сибири на наличие сапрофитных и патогенных дрожжей	39	Воложанцев Н.В., Баннов В.А., Кисличкина А.А., Карцев Н.Н., Вережкин В.В., Красильникова В.М., Мякина В.П., Борзлов А.И., Коробова О.В., Фурсова Н.К., Богун А.Г., Светоч Э.А., Дятлов И.А. Шига-токсин продуцирующие <i>Escherichia coli</i> : генетическое разнообразие, ПЦР-диагностика и фагопрофилактика	52
Андреева Т.С., Мельникова Е.А., Зайцева Е.А. Факторы патогенности <i>Enterococcus faecalis</i> , выделенных из мочи детей с инфекцией мочевыделительной системы	39	Волошина О.А., Ключникова С.В., Гуськова Е.Н. Этиологическая структура возбудителей сепсиса	53
Арутюнян Н.С., Мкртчян А.А., Агафонов П.С. Кандидозные вульвовагиниты у женщин в период беременности	40	Волошина О.А., Шанаева Е.А., Гуськова Е.Н. Видовой состав грибов рода <i>Candida</i> spp., выделенных из мочи	53
Афиногенова А.Г., Ворошилова Т.М., Афиногенов Г.Е. Выявление ингибиторов металло-β-лактамаз грамотрицательных микроорганизмов, резистентных к карбапенемам, методом «шахматной доски»	40	Воронина О.Л., Кунда М.С., Рыжова Н.Н., Аксенова Е.И., Семенов А.Н., Лазарева А.В., Семькин С.Ю., Амелина Е.Л., Сиимонова О.И., Лунин В.Г., Баранов А.А., Чучалин А.Г., Гинцибург А.Л. Разнообразие и опасность <i>Achromobacter</i> spp., вызывающих внутрибольничные инфекции	54
Ахметова С.Б., Котенева Е.Н., Феоктистов В.А., Абдулина Г.А., Карибаев С.А. Роль микробных ассоциаций в этиологической структуре пациентов с диабетической стопой	41	Ворошилова Т.М., Афиногенова А.Г., Афиногенов Г.Е. «Время-летальное действие» у карбапенемов в комбинации с бифосфонатом в отношении резистентных грамотрицательных микроорганизмов	54
Базиков И.А. Новый антимикробный гель с ниосомами кремнийорганической природы	41	Вотинцев М.Н., Азаров Д.В., Кожеко И.В., Гончаров А.Е., Соусова Е.В., Межазакис Ф.И., Козлов С.С. Эпидемиологические и молекулярно-генетические особенности бластоцистной инвазии в Санкт-Петербурге	55
Баландина С.Ю., Александрова Г.А., Степанова К.Н., Чарушина И.П. Об инфицированности кожных покровов больных культурами <i>Candida</i> spp.	41	Гаджимурадов М.Н., Темиров Т.А. Электронный регистр больных микозами – иные возможности контроля эпидемиологической ситуации в Республике Дагестан	55
Баландина С.Ю., Кривоногов К.Н., Александрова Г.А., Чарушина И.П. Патогенные свойства <i>Candida</i> spp. у ВИЧ-инфицированных больных	42	Герасимчук Е.В., Глазько В.В., Герасимчук М.Ю. Современные эпидемиологические тенденции поликлинических онихомикозов у офицеров «кадра» с учетом демографических особенностей	56
Батаева К.Д., Ершова А.И., Рябинин И.А. Ферменты биосинтеза афлатоксинов в геномах и протеомах микромицетов (анализ биоинформационной базы данных)	43	Гизатуллина Л.Г., Бадамшина Г.Г., Мясягутова Л.М., Григорьева Л.М. Особенности микология обсемененности слизистой оболочки влагалища у работниц производства иммунобиологических препаратов	57
Батырбаева Д.Ж., Рамазанова Б.А., Таурбаева Н.Т. Сравнительный анализ изучения резистентности грибов рода <i>Candida</i> к противогрибковым препаратам различными методами	43	Глушко Н.И., Халдеева Е.В., Лисовская С.А., Баязитова А.А. Экзометаболиты <i>Aspergillus niger</i> как факторы воздействия при отомикозах	57
Бахметьев А.А., Бахметьева Т.М. Анализ структуры грибковой заболеваемости у детей и подростков в Воронеже	44	Годовалов А.П., Быкова Л.П., Бакланова Ю.Ю. Изучение действия бактериофага на адгезию бактерий рода <i>Enterobacter</i>	58
Баязитова Л.Т., Лисовская С.А., Тюпкина О.Ф., Мухамеджанова Л.Р., Леонтьева Е.С. Оценка микробной контаминации очагов поражения красным плоским лишаем слизистой оболочки полости рта	45	Годовалов А.П., Быкова Л.П., Шестакова А.В. Опсонизация <i>Candida albicans</i> иммуноглобулином для внутривенного введения	58
Баязитова А.А., Глушко Н.И., Лисовская С.А., Халдеева Е.В., Паршаков В.Р., Ильинская О.Н. Оценка антихолинэстеразной активности <i>Aspergillus niger</i>	45	Голубева О.А., Степанова А.А. Ультраструктура порового аппарата септ клеток вегетативного мицелия <i>Fusarium proliferatum</i> (Matsush.), выращенного in vitro	59
Бельий Н.В., Румянцова М.В., Пунченко О.Е. Изменение свойств стафилококков с индуцированной устойчивостью к антисептикам	46	Гончаров А.Е., Гордеева Л.В., Шалапина Н.А., Колодживева В.В., Зуева Л.П., Машарский А.Э., Карасева А.И., Суворов	
Беспятовых Ю.А., Шитиков Е.А., Алтухов И.А., Бутенко И.О., Алексеев Д.Г., Мельникова Н., Журавлев В.Ю., Яблонский П.К., Ильина Е.Н. Особенности протеома микобактерий кластера Beijing B0/W148 в условиях in vitro культивирования	46		
Богомолова Е.В. Микобиота строительных конструкций больничных зданий	47		

- А.Н. Ахременко Я.А., Тарасова Л.А., Григорьев С.Е. Биоразнообразие микробных сообществ пищеварительного тракта «Малоляховского мамонта» (*Mammuthus primigenius*) 60
- Гордина Е.М., Горовиц Э.С., Лемкина Л.М. Биопленкообразование стафилококков, изолированных в условиях птицефабрики . . 60
- Граничная Н.В., Пятко В.Э., Зайцева Е.А. Структура и антибиотикорезистентность клинических изолятов, выделенных из раневого отделяемого пациентов в кардиохирургическом стационаре 61
- Григорьева Н.С., Кича Е.В., Черепанова Н.В., Свищевская В.А., Иванова В.В. Структура возбудителей острых кишечных инфекций бактериальной этиологии на территории Санкт-Петербурга в 2009-2014 гг. 61
- Гриневич С.В., Врынчану Н.А., Суворова З.С., Дудицова Д.М., Титаренко С.Н. Влияние производного (1-адамантил)-фенола ЮК-23 на формирование биопленок *Candida albicans* 62
- Громова Л.В., Дмитриева Ю.В., Алексеева А.С., Ермоленко Е.И., Груздков А.А. Состояние кишечной пищеварительной системы у крыс после введения пробиотических бактерий *Lactobacillus fermentum* Z и *Enterococcus faecium* L3 62
- Гульнева М.Ю., Носков С.М., Малафеева Э.В. *Candida albicans* в микробиоценозах организма больных ревматоидным артритом 63
- Гурина О.П., Блинов А.Е., Варламова О.Н., Дементьева Е.А., Тимохина В.И. Дефекты иммунитета при стафилококковой инфекции кожи у детей 63
- Даниленко Р.У., Хисматуллина З.Р., Мухаммадеева О.Р. Циткиновый статус у больных зооантропонозной трихофитией 64
- Данилова Е.Ю., Шабашова Н.В., Фролова Е.В., Учеваткина А.Е., Филиппова Л.В. Цитокины-регуляторы воспаления у больных гемобластозами, осложненными орофарингеальным кандидозом 64
- Демьянова О. Б., Буравкова А. Г., Полузктова Т. Е. Системная терапия разноцветного лишая «Кандитралом» 65
- Джигоев Ю.П., Букин Ю.С., Киселев Д.О., Парамонов А.И., Козлова И.В., Ткачев С.Е., Дорощенко Е.К., Сунцова О.В., Лисак О.В., Ляпунов А.В., Злобин В.И., Ружек Д. Пространственная эволюция популяции вируса клещевого энцефалита в природных экосистемах Северной Евразии 65
- Долго-Сабурова Ю.В., Жорж О.Н., Выборнова И.В., Богомолова Т.С., Шурпицкая О.А. Новые данные об этиологии рецидивирующего вульвовагинального кандидоза у женщин в Санкт-Петербурге 66
- Дусмагамбетов М.У., Дусмагамбетова А.М. Проблема подготовки врачей-микробиологов в Республике Казахстан 67
- Дымова М.А., Альховик О.И., Чередниченко А.Г., Храпов Е.А., Петренко Т.И., Филипенко М.Л. Молекулярно-генетическая характеристика лекарственно устойчивых изолятов *Mycobacterium tuberculosis*, циркулирующих на территории Сибири 67
- Елистратова Т.А., Протасова И.Н., Перьянова О.В., Бахарева Н.В. Распространенность, серотиповой пейзаж и чувствительность к антибактериальным препаратам *Streptococcus pneumoniae*, выделенных от детей-бактерионосителей 68
- Еньчева Ю.А., Кузнецова М.В., Рубцова Е.А., Афанасьевская Е.В., Самарцев В.А. Влияние антисептиков на биопленку, сформированную *Staphylococcus aureus* 69
- Ермоленко Д.К., Краева Л.А., Иьги А.А., Сварваль А.В., Ермоленко Е.И. Особенности микробиоты влагалища у больных с торпидным течением хронического трихомоноза 69
- Жданович Е. А., Федорович Е.В., Красько А.Г. Выделение легионелл из объектов окружающей среды в Республике Беларусь . . 70
- Жоголев С.Д., Жоголев К.Д., Журкин М.А., Огарков П.И., Харитонов М.А., Иванов В.В., Удальцов О.Е., Сбойчаков В.Б., Иванников Ю.Г. Носительство респираторных вирусов у военнослужащих 70
- Жоголев С.Д., Жоголев К.Д., Журкин М.А., Огарков П.И., Харитонов М.А., Иванов В.В., Удальцов О.Е., Сбойчаков В.Б., Иванников Ю.Г. Экология возбудителей респираторных заболеваний 71
- Жоголев С.Д., Жоголев К.Д., Журкин М.А., Харитонов М.А., Огарков П.И., Сбойчаков В.Б., Иванов В.В., Удальцов О.Е., Иванников Ю.Г. Применение иммуотропных средств для профилактики острых респираторных заболеваний и пневмоний у военнослужащих 71
- Журкин М.А., Жоголев К.Д., Жоголев С.Д., Огарков П.И., Харитонов М.А., Сбойчаков В.Б., Иванов В.В., Удальцов О.Е., Иванников Ю.Г. Этиология внебольничных пневмоний у лиц молодого возраста в организованных коллективах 72
- Журкин М.А., Харитонов М.А., Жоголев С.Д., Жоголев К.Д., Огарков П.И., Сбойчаков В.Б., Иванов В.В., Удальцов О.Е., Иванников Ю.Г. Изучение эффективности применения противирусных препаратов в комплексной терапии вирусно-бактериальной пневмонии 72
- Завгородняя Е.Ф., Сташкевич Л.А. *Candida* spp. в составе кишечных биоценозов при дисбиотических состояниях кишечника . . 72
- Зачиняева А.В., Сидельникова О.П., Зачиняев Я.В. Биологические свойства клинических штаммов *Candida* spp. 73
- Золотарева А.А. Анализ антагонистической активности пробиотических и условно-патогенных штаммов для коррекции дисбиоза кишечника 74
- Зуева Е.В., Стоянова Н.А., Токаревич Н.К., Толоян А.А. Дифференциация штаммов *Leptospira* spp. методом MALDI-TOF масс-спектрометрии 74
- Зур Н.В., Миронов А.Ю. Роль системы «Quorum sensing» при урогенитальном хламидиозе 74
- Зур Н.В., Миронов А.Ю. Способ диагностики инфекционной патологии почек при урогенитальном хламидиозе 75
- Зыкова Т.А., Богомолова О.А. Возможности молекулярных методов в программах эпидемиологического скрининга 75
- Зыкова Т.А., Туманян С.В., Богомолова О.А., Панова Н.И. Этиология пневмоний в онкологическом стационаре 76
- Зюзгин И.С., Рябькина О.Е., Ружинская О.С., Шадризова О.В., Хостелиди С.Н., Борзова Ю.В., Игнатьева С.М., Богомолова Т.С., Попова М.О., Бондаренко С.Н., Зубаровская Л.С., Афанасьев Б.В., Климко Н.Н. Инвазивный аспергиллез у больных острым лейкозом 77
- Иноземцева А.И., Зубрий О.Н., Соловьева Н.С., Мякотина Е.Н., Маничева О.А. Характеристика спектра бактерий-возбудителей неспецифического остеомиелита позвоночника 77
- Ильяс Соулайман, Попова М., Волкова А., Бондарчук С., Вавилов В., Бондаренко С., Слесарчук О., Смирнова А., Пинежина О., Шадризова О., Хостелиди С., Игнатьева С., Богомолова Т., Зубаровская Л., Климко Н., Афанасьев Б. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток пациенту с предшествующим инвазивным грибковым заболеванием . . 78
- Каншаев Н.З. Микробиологические особенности хронического тонзиллита 78
- Капустина В.В. Бактериальные биопленки в развитии катетер-ассоциированных инфекций 79
- Карабаева И.Т. Заболеваемость микроспорией в Узбекистане 79
- Карабаева И.Т. Новые подходы к лечению микроспории 79
- Карасева А.Б., Духовлинов И.В. Колобов А.А., Суворов А.Н. Исследование антимикробной активности синтетических бактериоцинов энтерококков 80
- Карашурова Е.С., Парфенова А.А. Грибковая инфекция у жителей республики Карелия (пилотное исследование) 80
- Касаткин Е.В., Лысогогорская И.В., Тимофеева Н.А. Этиология трихомикозов в Красногвардейском районе Санкт-Петербурга в 2009-2014 годах 81
- Касаткин Е.В., Лысогогорская И.В. Заболеваемость дерматомикозами за 6 лет в Красногвардейском районе Санкт-Петербурга . 81
- Касьмов О.И., Амакджанов М.Р. Лечение больных зооантропонозной трихофитией гладкой кожи 82
- Кирцидели И.Ю., Власов Д.Ю., Баранцевич Е.П., Крыленков В.А., Соколов В.Т. Микроскопические грибы-биодеструкторы в антропогенных местообитаниях архипелага Земли Франца Иосифа 82
- Кирьянов С.А., Макарова Н.Ю., Левина Т.А., Черноусова Л.Н., Смирнова Т.А., Ларионова Е.Е., Собкин А.Л., Виноградова Э.В., Нестеренко В.Г., Суслов А.П. Быстрое генотипирование устойчивости к рифампицину и изониазиду в мокроте больных туберкулезом с использованием новой мультиплексной ПЦР-диагностической тест-системы 83

Князева О.Р., Погоцкая Ю.В., Тимофеев К.С., Молочкова Я. В., Красько А.Г. Выявление возбудителей инфекционных заболеваний человека в искодовых клещах, собранных в сезон 2014 г. в республике Беларусь	83	Кухар Е.В. Результаты генотипирования и классических методов идентификации в диагностике дерматомикозов	96
Ковалев Д.А., Шевченко С.Ю. Влияние вируса папилломы человека (ВПЧ) на течение хламидийной и микоплазменной инфекции у мужчин	83	Лабушкина А.В., Макляков Ю.С., Харсеева Г.Г., Сыпка О.И. Бактерицидная активность ионизированного серебра	97
Козлова Е.С., Никифорова Т.Е. Токсикологическая оценка целлюлозных материалов, содержащих наночастицы серебра	84	Лабушкина А.В., Харсеева Г.Г., Рябова А.М., Токавкина С.Ю. Антагонистические и адгезивные свойства <i>Corynebacterium pseudodiphtheriae</i>	97
Козлова Н.С., Баранцевич Е.П., Баранцевич Н.Е., Мокрова Е.В. Антибиотикорезистентность энтеробактерий пациентов многопрофильного стационара	85	Ластовка О.Н., Коваленко А.Д., Евельсон Е.А. Методическое обеспечение микробиологического мониторинга водных систем. Опыт кафедры микробиологии.	97
Козлова Н.С., Баранцевич Е.П., Баранцевич Н.Е., Мокрова Е.В. Микробиота респираторного тракта пациентов многопрофильного стационара	85	Латыпова Е.М., Тараскина А.Е. Структурный анализ гена <i>SusP51a</i> резистентных штаммов <i>Aspergillus</i> spp. к препаратам группы азолов	98
Козлова О.П., Мирзабалаева А.К., Клишко Н.Н. Факторы риска висцерального актиномикоза	86	Леонов В.В., Леонова Л.В., Соколова Т.Н., Дыдьмов Н.А. Стафилококковые биопленки в зависимости от содержания железа в сыворотке крови.	99
Козлова О.П., Мирзабалаева А.К., Клишко Н.Н. Случай успешного лечения актиномикоза коленного сустава.	86	Леонова Л.В., Отшамов Д.Ю., Шелестюк В.В., Леонов В.В. Ананьина И.В., Соколова Т.Н. Антимикотическая активность экстрактов сфагнового мха	99
Козлова Я.И., Борзова Ю.В., Малеева Е.Г., Аак О.В., Богомолова Т.С., Игнатъева С.М., Клишко Н.Н. Аллергический бронхолегочный аспергиллез у больных муковисцидозом в Санкт-Петербурге	87	Летяева О.И., Абрамовских О.С., Зиганшин О.Р., Прокопьев Д.С. Частота ассоциаций вируса папилломы человека с патогенными и условно-патогенными микроорганизмами у женщин репродуктивного возраста	99
Козлова Я.И., Фролова Е.В., Аак О.В., Учеваткина А.Е., Филиппова Л.В., Соболев А.В., Клишко Н.Н. Иммунологические особенности больных бронхиальной астмой с микогенной сенсибилизацией	88	Липовская В.В., Крамар С.К. Эпидемиологические особенности микроспории в г. Сумы	100
Корнишева В.Г., Шурлицкая О.А., Макарова А.И. Частота выявления грибов рода <i>Malassezia</i> у больных себорейным дерматитом	89	Лисовская С.А., Халдеева Е.В., Глушко Н.И. Влияние экстрактов плесневых грибов на вирулентные свойства <i>Candida albicans</i>	100
Корноухова Л.А. Оценка эффективности тестов для неинвазивной диагностики	89	Лукова О.А., Александрова Н.А. Кропотов В.С., Махрова Т.В., Заславская М.И. Влияние метаболитов фунгальной и бактериальной микробиоты на экспрессию Toll-подобных рецепторов эпителиоцитами полости рта	101
Королёва-Ушакова А.Г., Баранова Е.В., Соловьев П.В., Бикетов С.Ф., Кононов Л.О. Сравнительная характеристика диагностического потенциала микобактериальных синтетических антигенов для серодиагностики лепры	90	Лукьяненко Т.В., Осолодченко Т.П., Андреева И.Д. Селекция штаммов <i>Lactobacillus</i> spp. с приобретением ими оксалатдеградирующих свойств	102
Коскин В.С., Светяш Д.А., Рудь А.А., Петров А.Н., Борисенко Н.В., Суборова Т.Н. Микробиологический мониторинг инфекционных осложнений у раненых и пострадавших лиц с поли-травмами	90	Малянова Ш.З., Есионова Е.В. Определение <i>Candida</i> spp. в биосубстратах от больных атопическим дерматитом	102
Котрехова Л.П., Разнатовский К.И., Цурупа Е.Н. Применение флуконазола в терапии больных онихомикозом стоп, протекающего с прогностически неблагоприятными клиническими проявлениями	91	Малянова Ш.З., Тилавбердыев Ш.А., Исмагилов А.И. Оптимальные подходы к терапии кандидозов слизистой оболочки полости рта у иммунокомпрометированных больных	103
Котрехова Л.П., Разнатовский К.И., Шурлицкая О.А., Босак И.А., Вашкевич А.А. Нафтифин гидрохлорид в терапии микоза стоп, осложненного бактериальной инфекцией и протекающего с выраженной воспалительной реакцией	91	Малянова Ш.З., Яхшиева М.Ф., Исмагилов А.И., Шукуров И.Б., Малянова З.А. Совершенствование методов терапии у больных себорейным дерматитом	103
Котылева М.П., Тарасова Е.А., Елисеев А.В., Ермоленко Е.И. Влияние пробиотических бактерий и их комплекса на микробиоту кишечника при экспериментальном дисбиозе	92	Макарова Т.Б., Михалев А.С., Цветков И.Л. Автоматическое риботипирование как способ идентификации патогенных микроорганизмов	104
Краснова М.В., Божкова С.А., Полякова Е.М., Рукина А.Н., Шабанова В.В. Влияние комбинаций антистафилококковых антибиотиков с моксифлоксацином на биопленкообразование у клинических штаммов MRSA <i>in vitro</i>	92	Малинин М.П., Ласкавий В.Н., Габалов К.П., Волкова М.В. Формирование антитоксического иммунитета у цыплят, иммунизированных против колибактериоза штаммом <i>Escherichia coli</i> B-5.	104
Кудрявцева Е.Н., Корабельникова М.И., Красавченко К.С., Мантров А.И., Хоруженко А.С., Лавров В.Ф., Ярош Л.В., Семенов Т.А., Кузин С.Н. Динамика частоты обнаружения антител к вирусу гепатита С у пациентов крупного многопрофильного стационара в период с 2004 по 2012 годы.	93	Малова И.О., Кузнецова Ю.А. Эффективная терапия хронического рецидивирующего вульвовагинального кандидоза, сочетающегося с повышенной колонизацией кишечника <i>Candida</i> spp.	105
Кузьмина Н.А., Зинченко М.А., Зинченко А.В. Динамика проблем микологии и эпидемиологии в Вологодском областном онкологическом диспансере за последних 10 лет	93	Мальгина О.Г., Бажукова Т.А. Распространение <i>Candida</i> spp. у недоношенных детей в условиях стационара	105
Кулуев Б.Р., Пискунова А.В., Мавзютов А.Р. Молекулярно-генетическая характеристика антибиотикорезистентности клинических штаммов <i>Enterobacteriaceae</i> , выделенных при острых кишечных инфекциях	94	Мальш Н.Г. Антибиотикорезистентность <i>Salmonella enteritidis</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> – патогенов острых диарейных инфекций	106
Кунельская В.Я., Романенко С.Г., Шадрин Г.Б., Красникова Д.И., Андреевкова О.А. Лечение больных с выявленным ларингомикозом	94	Мальшев В.В., Сбойчаков В.Б., Змеева Т.А. Инновации в подготовке и определении возбудителей (и их маркеров) острых кишечных вирусных инфекций	106
Кунельская В.Я., Шадрин Г.Б., Мачулин А.И., Красникова Д.И., Андреевкова О.А. Аспекты рациональной терапии микоза ЛОР-органов.	95	Маничева О.А., Мельникова Н.Н., Догондадзе М.З., Стеклова Л.Н., Змазнова А.Е., Журавлев В.Ю., Мокроусов И.В., Вязовая А.А., Герасимова А.А., Нарвская О.В., Вишневский Б.И. Минимальная ингибирующая концентрация изониазида, определенная методом Rema, для устойчивых штаммов <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	107
		Марковская А.А., Леванова Л.А. Совершенствование методов профилактики бактериально-грибковых оппортунистических инфекций ротоглотки у детей с ВИЧ-инфекцией	107
		Медведева Т.В., Чилина Г.А., Черныш Д.Б. Редкий вариант течения микроспоридийной инфекции.	108

- Мелёхина Ю.Э., Шевяков М.А., Авдеев Ю.Л., Фролова Е.В., Васильева Н.В., Климов Н.Н. Эффективность противорецидивной терапии рецидивирующего кандидоза пищевода 108
- Менкус Е.В., Осолодченко Т.П., Андреева И.Д. Питательная среда на основе гидролизатов паточной мелассы 109
- Митин Ю.А., Кацалуха В.В., Пастушенков В.Л., Пак Н.В. Оценка эффективности комбинированной антибиотико- и иммунотерапии экспериментальной генерализованной туберкулезной инфекции у мышей, вызванной лекарственно-устойчивым штаммом микобактерий 109
- Митин Ю.А., Кацалуха В.В., Пак Н.В. Характеристика изменений эффективности комбинированной антибиотико- и иммунотерапии экспериментальной генерализованной туберкулезной инфекции у мышей, вызванной лекарственно-устойчивым штаммом микобактерий, на фоне иммуносупрессии 110
- Митин Ю.А., Пастушенков В.Л., Углина О.А. Экспериментальное изучение воздействия антигенов *Aspergillus flavus* на реактивность изолированных сегментов тонкой кишки, содержание и функциональную активность нейтрофильных лейкоцитов у животных 111
- Митин Ю.А., Пастушенков В.Л., Углина О.А. Особенности клинического течения, изменений иммунной системы у детей больных острой дизентерией, имевших колонизацию кишечника грибами *Aspergillus flavus* 111
- Митин Ю.А., Никитин В.Ю., Сухина И.А. Иммунопатогенез хронического гепатита с у лиц различных возрастных групп 112
- Михайлова Е.С., Самоукина А.М. Условно-патогенная микробиота различных биотопов у недоношенных новорожденных детей 112
- Морева Ж.Г., Васильев М.М. Особенности микробиологических приемов в диагностике урогенитального трихомоноза у женщин 113
- Найденко Е.В., Гарасько Е.В., Смирнова Д.Ю., Макаров С.В. Исследование антибактериальной активности металлоорганических каркасных соединений 113
- Найденко Е.В., Горберг Б.Л., Ерова М.И., Гарасько Е.В., Макаров С.В. Бактерицидные и фунгицидные свойства модифицированных пищевых пленок с наночастицами серебра 114
- Наумкина Е.В., Абрисимова О.А. Инфекции, вызванные стрептококками серогруппы В, у беременных женщин, родильниц и новорожденных детей 114
- Наумкина Е.В., Пядочкина Т.В. Микробиота отделяемого дыхательных путей новорожденных отделения реанимации и интенсивной терапии 115
- Нестерова А.А., Нестерова К.И., Нестеров И.А. Некоторые особенности микробиоты носоглотки у часто болеющих детей, получавших топические кортикостероиды 115
- Нестерова К.И., Нестеров И.А., Нестерова А.А. Значение грибкового фактора в формировании хронических риносинуситов 116
- Нестерова К.И., Нестерова А.А., Чеснокова М.Г., Нестеров И.А., Лобанова О.С., Ионина Ю.В., Горбачева Н.Ю., Соловьева Т.Д., Карпова О.И., Неверова М.В., Волосникова А.Р. Частота грибковой инвазии слизистой оболочки глотки у жителей Западно-Сибирского региона 117
- Нечаева О.В., Шаповал О.Г., Вакареева М.М., Ульянов В.Ю., Тихомирова Е.И., Целик К.С. Влияние полимерного соединения на адгезивные свойства *Candida albicans* 117
- Новикова Л.А., Бахметьева Т.М. Клинико-эпидемиологические особенности заболеваемости отрубевидным лишаем населения г. Воронежа 118
- Новикова Л.А., Бахметьева Т.М. Качество жизни у больных онихомикозами 118
- Новикова Л.А., Буравкова А.Г., Демьянова О.Б. Современные подходы к наружной терапии микозов стоп 119
- Новикова Л.А., Бялик Л.Р., Горовой В.Е. Кандидозный эрозивно-язвенный баланопостит в сочетании с трихомонадной инфекцией 119
- Оганесян Э.Г. Коагулазоотрицательные стафилококки в дизайне микробиологического изучения микробиоты кишечника и диагностики дисбиотических состояний 119
- Одегова Н.В. О мерах предупреждения риска повышенной микробной контаминации пищевой рыбной продукции 120
- Омарова С.М., Алиева С.Ф. Изучение факторов внутрибольничного инфицирования пациентов стоматологических клиник 120
- Омарова С.М., Моллаева А.М. Изучение факторов развития внутрибольничных инфекций мочевыводящих путей в акушерских стационарах Махачкалы 121
- Останкова Ю.В., Зуева Е.В., Семенов А.В., Тополян Арег А. Клинический случай идентификации *Stenotrophomonas maltophilia* 121
- Останкова Ю.В., Семенов А.В., Токаревич Н.К., Стоянова Н.А. Сравнительный анализ гена 16s рРНК международных референс-штаммов *Leptospira* spp. 121
- Останкова Ю.В., Семенов А.В., Тополян Арег А., Пищик В.Н., Попов А.А. Видовая идентификация бактерий в смешанных культурах 122
- Пашичина О.А., Карташова О.Л., Попова Л.П. Молекулярно-генетическая характеристика клинических изолятов *Candida albicans* 122
- Петров В.А., Гасретова Т.Д., Моценко С.В., Воробьева Е.Н., Алутина Э.Л. Стафилококки в этиологической структуре внебольничных пневмоний 123
- Прочуханова А.Р., Люблинская О.Г., Зенин В.В., Азаренок А.А., Жилинская И.Н. Влияние вируса гриппа на клеточный цикл культуры клеток эндотелия EAHy 926 123
- Пчелин И.М., Руднева М.В., Чилина Г.А., Краснова Э.В., Тараскина А.Е. Определение вида дерматомицетов рода *Trichophyton* по последовательности региона ITS: поиск оптимального алгоритма 124
- Романов В.А. Микробиота поверхностных биотопов при некоторых ревматических заболеваниях 125
- Романова Н.В., Дарсалия И.А., Романова Г.И. Инфекции, передаваемые половым путем: полимеразная цепная реакция в диагностике и контроле эффективности терапии 125
- Рудаков Н.В., Шпынов С.Н., Егембердыева Р.А., Самойленко И.Е., Кумпан Л.В. Молекулярная микробиология и эпидемиология риккетсий и риккетсиозов группы клещевой пятнистой лихорадки в России и Казахстане 126
- Руднева М.В., Лавникович Д.М., Доршакова Е.В., Игнатьева С.М. Внутривидовое типирование микромицетов-биодеструкторов *Stachybotrys* spp. на основе мультислокового секвенирования 126
- Рюмина М.В., Габалов К.П., Малинин М.Л. Влияние аланина и аспартата на рост *Staphylococcus aureus*; активность макрофагов и выживаемость мышей при модельной стафилококковой инфекции 127
- Рябинин И.А., Богданова Т.В., Васильев О.Д. Сверхстабильные аминокислотные сайты в первичной структуре ланостерол-14- α -деметилаз 127
- Саватеева А.Г., Семиколенова Г.А., Гасретова Т.Д., Алутина Э.Л., Харсеева Г.Г. Этиологическая структура и резистентность возбудителей инфекции дыхательных путей, связанной с искусственной вентиляцией легких 128
- Сайгушева Л.А., Дудко Е.Ф., Евтушенко Е.А., Куяров А.А. *Candida* spp. в развитии хронического генерализованного пародонтита у жителей урбанизированного Севера 128
- Салина Т.Ю., Морозова Т.И., Докторов Н.П., Данилов А.Н. Клинические особенности туберкулеза у больных с множественными мутациями в генах *katG*, *inhA*, *ahpC*, *proV*, кодирующими лекарственную устойчивость к изониазиду и рифампицину 128
- Светяш Д.А., Коскин В.С., Рудь А.А., Петров А.А., Борисенко Н.В., Суборова Т.Н. Полирезистентные изоляты *Klebsiella pneumoniae* в развитии инфекционных осложнений у раненых и пострадавших лиц 129
- Свиридова Е.В., Султанова И.Х. Анализ микробиоценоза кожи у лиц, страдающих акне 129
- Селютина О.В. Клинико-эпидемиологические особенности микроспории 130
- Сергеева Л.Е. Некоторые проблемные вопросы встречаемости микромицетов в замкнутых экосистемах 130
- Серебрякова И.С. Особенности клинико-лабораторной диагностики ладонно-подошвенных форм псориаза в сочетании с урогенитальными инфекциями 131
- Сиволодский Е.П., Бадиков В.Д., Зуева Е.В., Куншова Е.С., Богомилчик Е.А. Особенности идентификации и характери-

стика первых клинических штаммов <i>Pseudomonas fulva</i> , выделенных в России	131	Хараева З.Ф. Феномен бактерионосительства золотистого стафилококка среди медицинских работников и студентов медицинских специальностей	144
Сиволодский Е.П., Сидоренко С.В., Бадиков В.Д., Горелова Г.В., Богословская С.П. Домакова Т.В., Калиногорская О.С. Чувствительность к антибиотикам клинических штаммов <i>Pseudomonas fulva</i> , выделенных в Санкт-Петербурге	132	Хисматуллина З.Р., Мухаммадеева О.Р., Даниленко Р.У., Глинукурова Л.М., Дорожкин Л.А. Иммуногенез у больных с зооантропонозной трихофитией	144
Сидорова О.И., Иванова Е.В., Перунова Н.Б. Влияние теплового стресса на антилизоцимную активность <i>Staphylococcus aureus</i> и <i>Klebsiella pneumoniae</i>	132	Хостелиди С.Н., Богомолова Т.С., Попова М.О., Волкова А.Г., Колбин А.С., Сатурнов А.В., Белогурова М.Б., Зубаровская Л.С., Афанасьев Б.В., Васильева Н.В., Клишко Н.Н. Диагностика и лечение микозов, обусловленных редкими дрожжеподобными грибами, в Санкт-Петербурге	145
Смирнова И.Э., Пичхадзе Г.М., Треножникова Л.П., Галимбаева Р.Ш. Эффективность новых инновационных нанокapsулированных лекарственных форм флуконазола в отношении возбудителей грибковых инфекций человека	133	Хостелиди С.Н., Борзова Ю.В., Шадривова О.В., Шагдилеева Е.В., Попова М.О., Волкова А.Г., Богомолова Т.С., Зюзгин И.С., Белогурова М.Б., Колбин А.С., Зубаровская Л.С., Афанасьев Б.В., Васильева Н.В., Клишко Н.Н. Диагностика и лечение инвазивных микозов, обусловленных редкими плесневыми микромицетами, в Санкт-Петербурге	146
Соловьева Н.С., Маничева О.А., Вязовая А.А., Журавлев В.Ю., Вишневский Б.И. Структура лекарственной устойчивости и генотипы клинических изолятов <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , выделенных от больных туберкулезным спондилитом и туберкулезом органов дыхания	133	Челпаченко О.Е., Данилова Е.И., Федотова Л.П., Бондаренко Т.А., Сидорова О.И. Антилизоцимная активность и способность к биопленкообразованию <i>Candida spp.</i> , выделенных из фекалий у детей с реактивным артритом	147
Соломенный А.П. «Плавучий рынок» генов	134	Червинец В.М., Червинец Ю.В., Беляева Е.А., Чаркова А.Р., Трошин А.В. Характер микроценоза толстого кишечника у лиц с преддиабетом	147
Солонина Н.Л. Применение пробиотиков при лечении бактериального вагиноза у беременных	135	Черкасова Л.В., Бурханов Р.А. Актуальность раннего выявления селективного дефицита иммуноглобулинов класса М (обзор)	147
Степаненко И.С., Котыкин А.И., Ямашкин С.А. Пирролохинолины: перспективный класс соединений с противомикробной активностью	135	Шагдилеева Е.В., Рауш Е.Р., Богомолова Т.С., Васильева Н.В., Клишко Н.Н. Результаты исследования внутрибольничного инвазивного кандидоза в Санкт-Петербурге	148
Степаненко Л.А., Боброва О.И., Джигоев Ю.П., Колбасева О.В., Коган Г.Ю., Карноухова О.Г., Злобин В.И. Серологический пейзаж и антибиотикорезистентность штаммов <i>Streptococcus pneumoniae</i> , выделенных у здоровых детей в городе Иркутске	136	Шагдилеева Е.В., Хостелиди С.Н., Ружинская О.С., Рябькина О.Е., Успенская О.С., Богомолова Т.С., Игнатьева С.М., Клишко Н.Н. Случай микоза лёгких, вызванного <i>Echinophiala spp.</i> , у пациента с острым миелоиднобластным лейкозом (M4 вариант)	149
Степанов А.С., Гоменюк Н.А., Терехов А.Ю., Меглей А.С. Оценка влияния вариабельности биохимических свойств стафилококков на точность их идентификации	136	Шадривова О.В., Фролова Е.В., Учеваткина А.Е., Филиппова Л.В., Богомолова Т.С., Васильева Н.В., Клишко Н.Н. Клиническое значение иммунологических параметров при инвазивном аспергиллезе у гематологических больных	150
Степанова А.А., де Хоог Г.С., Васильева Н.В., Чилина Г.А. Ультраструктура латеральных клеточных стенок, септ и септального порового аппарата клеток вегетативного мицелия <i>Scedosporium apiosporium</i>	137	Шамаева С.Х., Сизых Т.В., Кузьмина А.А., Варфоломеева Н.А., Малогулова И.Ш. Этиология возбудителей внутрибольничной пневмонии и их антибиотикорезистентность в отделении реанимации и интенсивной терапии	151
Степанова А.А., Ямагучи М., Шимицу К., Кавамото С., Васильева Н.В. Сравнительный ультраструктурный анализ клеточных компонентов в период почкования некоторых видов дрожжей	137	Шапалов О.Г., Бурлачева Е.В., Нечаева О.В. Антагонистическая активность лактобактерий в отношении <i>Candida spp.</i>	151
Суббота А.Г., Наконечная Л.Т. Микроскопические грибы-деструкторы помещений архивохранилища аудио- видео- документов	138	Шаталова Е.В., Парахина О.В. Влияние характера взаимоотношений возбудителей гнойно-воспалительных процессов <i>Candida</i> -бактериальной этиологии на продолжительность и эпидемиологию нозокомиальных инфекций	152
Суббота А.Г., Чуенко А.И., Письменная Ю.Б., Мозговая С.Г., Зотова Л.П., Баляница Н.Б. Антифунгальная активность биоцида «Валеус Д» в отношении грибов – деструкторов бумаги	138	Шевяков А.Г., Борзенков В.Н., Ветчинин С.С. Диагностика патогенных листерий с применением иммуномагнитного разделения, совмещенного с иммунохроматографией	152
Сухова Л.П., Астахова М.В., Мигула О.А., Филатова М.В. Распространение штаммов <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , продуцирующих металло-бета-лактамазы в стационарах Липецка	139	Шерегов А.Х. Факторы персистенции факультативно-анаэробных возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области у детей	153
Тарасенко Т.Н., Габалов К.П., Малинин М.Л. Влияние ферментов энергетического обмена на рост <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	139	Шнейдер Ю.А., Смирнова И.П., Каримова Е.В., Приходько Ю.Н. Ингибирующая способность L-лизин-α-оксидазы гриба <i>Trichoderma harzianum</i> Rifai и оценка при воздействии на фитопатогены	153
Тихомирова О.М., Самойлова М.А. Выживаемость некоторых мицелиальных грибов при совместном культивировании с природной ассоциацией микроорганизмов «Тибетский рис»	140	Шуршалова Н.Ф., Джалапакова А.Е., Нечаева О.В., Заярский Д.А. Антимикробное действие нового полимерного соединения, модифицированного перекисью водорода	154
Тугушева А.Г., Зайцева Е.А. Адгезивные свойства и антибиотикорезистентность <i>Staphylococcus aureus</i> , выделенных при разнообразных инфекционных процессах	141	Щедрина Н.А., Карцев В.В., Одегова Н.В. Некоторые вопросы обеспечения микробиологической стабильности рыбной продукции при хранении	154
Ульянов В.Ю., Определенцева С.В., Дроздова Г.А., Норкин И.А., Нечаева О.В. Образование биопленок <i>in vitro</i> клиническими штаммами <i>Candida albicans</i> , выделенными из аспиратов трахеи пациентов с бронхолегочными осложнениями в остром и раннем периодах травматической болезни спинного мозга	141	Эйдельштейн И.А., Эйдельштейн М.В., Романов А.В., Рачина С.А., Яцышина С.Б., Раковская И.В., Козлов Р.С. Выявление мутаций устойчивости к макролидам в гене 23S рРНК <i>Mycoplasma pneumoniae</i> с помощью ПЦР в режиме реального времени	155
Филоненко Г.В., Саламанина А.А., Кирик Д.Л. Особенности колонизации верхних дыхательных путей у детей первого года жизни с врожденными пороками сердца	142	Яковлев А.Б. Особенности клинико-лабораторной диагностики экссудативных микозов гладкой и волосистой кожи	155
Фролова Я.Н., Харсеева Г.Г., Герасимов В.Н., Котов С.А., Гасретова Т.Д. Электронно-микроскопическое исследование биопленок штаммов <i>Corynebacterium diphtheriae</i> gravis tox+	143	Ярош Л.В., Кузин С.Н., Семенов Т.А. Структура генотипов вируса гепатита С у иностранных граждан (мигрантов), прибывших в Московскую область	156
Халдеева Е.В., Лисовская С.А., Глушко Н.И., Паршаков В.Р. Бактериально-грибковые ассоциации в жилых помещениях с очагами биодеструкции	143		

УДК 582.282.123.4

ГЛИТОКСИН (КРАТКИЙ ОБЗОР)

Рябинин И.А. (ассистент кафедры)*, Васильев О.Д. (доцент кафедры), Батаева К.Д. (студент медико-профилактического факультета), Ершова А.И. (студент медико-профилактического факультета)

Северо-западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (кафедра медицинской микробиологии), Санкт-Петербург, Россия

© Коллектив авторов, 2015

В обзоре представлена краткая сводка различных аспектов изучения глиотоксина. Приведены данные об истории открытия, физико-химических свойствах, антимикробном и токсическом действии, продуцентах и биосинтезе этого соединения. Отдельное внимание уделено обнаружению глиотоксина в качестве биомаркера инвазивного аспергиллеза. Подробно описаны установленные и возможные механизмы токсического действия данного соединения.

Ключевые слова: *Aspergillus*, *Gliocladium* глиотоксин, протеасома, *Trichoderma*

GLIOTOXIN (MINIREVIEW)

Ryabinin I.A. (assistant of the chair), Vasilyev O.D. (associated professor), Bataeva X.D. (student of faculty of preventive medicine), Erschova A.I. (student of faculty of preventive medicine)

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (Chair of Medical Microbiology), St. Petersburg, Russia

© Collective of authors, 2015

A brief summary of the various aspects of the gliotoxin studying has been presented in the review. Data about the history of the discovery, physical and chemical properties, antimicrobial and toxic effects, microbial producers and biosynthesis of this compound are provided. Special attention is paid to the detection gliotoxin as a biomarker of invasive aspergillosis. Established and possible mechanisms of toxic action of this substance are described in detail.

Key words: *Aspergillus*, *Gliocladium*, gliotoxin, proteasome, *Trichoderma*.

ВВЕДЕНИЕ

Глиотоксин – соединение с более чем 80-летней историей изучения. Несмотря на это, интерес к нему не угасает. Этому способствует ряд факторов, в числе которых обнаружение (благодаря работам Kwon-Chung K.J. и соавторов [1, 2]) глиотоксина в биологических жидкостях больных инвазивным аспергиллезом животных (в модельном эксперименте) и людей. Из многочисленных микотоксинов, продуцируемых возбудителями инвазивных микозов, пока только для глиотоксина убедительно показана роль в развитии инвазивного микоза. Грибы не могут синтезировать многие из микотоксинов при температуре тела человека. Таким образом, глиотоксин можно рассматривать в качестве потенциального маркера инвазивного аспергиллеза, вызванного, в частности, *Aspergillus fumigatus*.

Также необходима разработка темы глиотоксина в связи с его антимикробным и цитостатическим действиями. В первой половине XX века, «на волне» разработки природных пенициллинов, предпринимали неоднократные попытки найти метаболиты грибов, которые можно будет применять в терапевтических целях. Большинство таких «находок» так и не получили развития из-за ярко выраженных токсических эффектов. Однако прогресс химического синтеза на стыке XX и XXI веков помог преодолеть это препятствия путем создания малотоксичных аналогов. Яркий пример – синтетические производные ардееминов (Chou T.-C. et al., 1998; [3])

* Контактное лицо: Рябинин Игорь Андреевич, тел.: (812) 303-51-40

и фумитреморгенов – новые химиотерапевтические агенты для лечения злокачественных образований, резистентных к ранее известным средствам.

В обзоре представлены свойства глиотоксина в различных аспектах; приведенные здесь данные могут быть полезны широкому кругу микробиологов, интересующихся проблемами медицинской микологии, антибиотиков, метаболизма и веномики, в частности.

Физико-химические свойства

Глиотоксин (аспергиллин), отнесенный к классу эпиполитиодиоксопиперазинов, представляет собой бесцветное, оптически активное, нейтральное соединение. Некоторые физико-химические данные приведены в таблице 1, а структурная формула – на рисунке 1. Глиотоксин сохраняется в кислой среде, но разрушается в щелочной; чувствителен к действию света. Максимумы поглощения излучения – 270 и 450 нм, минимумы поглощения – 245 и 350 нм. Растворители, пригодные для глиотоксина: диметилсульфоксид, метанол (10 мг/мл), хлороформ (10 мг/мл), этилацетат, петролейный эфир, пиридин (7,7% при 7 °С), диоксан (7,3% при 7 °С), диметилформамид. Растворимость в других соединениях (г в 100 мл при +7 °С): ледяная уксусная кислота (1,2); ацетон (0,9); бензол (0,55); четыреххлористый углерод (0,08); этилацетат (0,85); этанол (0,47). Глиотоксин практически не растворим в воде (70 мг/л при 30 °С) [4, 5].

Таблица 1

Физико-химические свойства глиотоксина [5]

Систематическое название: 2,3R,5aS,6S-тетрагидро-6-гидрокси-3-(гидроксииметил)-2-метил-10Н-3,1а-Э-эпидитиопиразино[1,2-а]-индол-1,4-дион	
Брутто-формула: C ₁₃ H ₁₄ N ₂ O ₅ S ₂	Плотность: 1,75 г/см ³
Молекулярная масса: 326,4	Точка плавления: 200°–202 °С
CAS (Chemical Abstract Service) № 67-99-2	Точка кипения: 699,72 °С при 760 мм рт.ст.

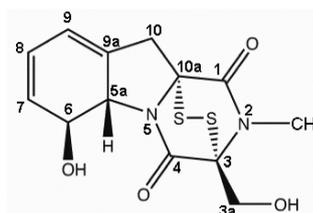


Рис. 1. Структурная формула глиотоксина

История открытия

В 1932 г. Richard Weindling обнаружил способность *Trichoderma lignorum* подавлять рост других грибов. Позже, в 1934 г., он показал, что антагонистическая активность этого гриба опосредована каким-то соединением из культуральной жидкости, а в 1937 г. ему удалось получить это соединение в кристаллическом виде. По названию одного из видов-продуцентов данного вещества – *Gliocladium fimbriatum* вещество назвали глиотоксин. В 1946 г. Stanley N.F. и Mills J.A. доказали, что глиотоксин и выделенный ранее из культуральной жидкости *A. fumigatus* метаболит «аспергиллин» являются идентичными соединениями. Глиотоксин впервые получили синтетическим путем в 1976 г. [2].

Антимикробное действие

В 1946 г. Stanley N.F. и Mills J.A. получили кристаллический препарат глиотоксина и исследовали его антимикробную активность (табл.2; в таблице устаревшие названия микроорганизмов, указанные в оригинальном документе, заменены действующими).

Таблица 2

Антибактериальное действие глиотоксина

Микроорганизм	Минимальные разведения, в которых действует раствор глиотоксина концентрацией 10 ⁻⁴ мг/мл	
	Минимальное бактериостатическое разведение	Минимальное бактерицидное разведение
<i>Staphylococcus aureus</i> (2 штамма)	1/16	1/8
<i>Bacillus subtilis</i>	1/32	1/16
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1/2048	1/1024
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1/256	1/128
α -гемолитический стрептококк	1/128	1/64
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> var. <i>mitis</i>	1/128	1/64
<i>C. diphtheriae</i> var. <i>gravis</i> №1	1/2048	1/1024
<i>C. diphtheriae</i> var. <i>gravis</i> №2	1/512	1/256
<i>Clostridium tetani</i>	1/128	1/64
<i>Clostridium welchii</i>	1/32	1/16
<i>Neisseria meningitidis</i>	1/2048	1/1024
<i>Shigella flexneri</i>	1/32	1/16
<i>Salmonella enterica</i> ser. Typhi (2 штамма)	1/4	1/2
<i>Salmonella enterica</i> ser. Typhimurium	1/2	1/1
<i>Proteus vulgaris</i>	1/1	–
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1/1	–
<i>Haemophilus influenzae</i>	1/1	–
<i>Brucella abortus</i>	1/64	1/32

Из приведенной таблицы видно, что глиотоксин оказывает более сильное действие на грамположительные бактерии, чем на грамотрицательные. *Mycobacterium tuberculosis* оказалась устойчивой к глиотоксину. Кроме того, авторам удалось получить резистентные к глиотоксину штаммы *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* ser. Typhi и *Clostridium welchii* путем повторных пассажей на средах с возрастающими концентрациями глиотоксина. Проявление резистентности оказалось стойким в повторных пассажах. Глиотоксин-устойчивые штаммы приобрели также некоторые необычные свойства: *S. aureus* стал лучше расти в анаэробных условиях, у штаммов золотистого стафилококка и *C. welchii* резко снизилась вирулентность. Интересно, что глиотоксин оказывал более сильное действие на пенициллин-резистентные штаммы *S. aureus*, чем на обычные. Глиотоксин также активен против некоторых актиномицетов.

Herrick J.A. (1945) выявил действие глиотоксина на *T. mentagrophytes*: фунгистатическая концентрация составила 0,001%; фунгицидная – 0,01%. Глиотоксин оказывает сходное по силе фунгистатическое действие на многих дерматомицетов: МИК (минимальную ингибирующую концентрацию) равную 7 мкг/мл наблюдали у *Trichophyton mentagrophytes*, *T. tonsurans*, *Microsporum canis*, *M. audouinii*, *M. fulvum*, *M. ferrugineum* и *M. gallinae*. МИК для *T. verrucosum* составила 5 мкг/мл, для *Epidermophyton floccosum* – 2,5 мкг/мл (Korzybski T., Kowszyk-Gindifer Z., Kurylowicz W., 1967). Этими же авторами получены МИК глиотоксина для следующих микроорганизмов (мкг/мл): *S. aureus* (0,2-0,5); *S. epidermidis* (1,0-2,5); *Streptococcus mitis* (0,5); *Moraxella catarrhalis* (0,2); *Bordetella pertussis* (1,0-2,5); *Salmonella* Typhi (2,5); *Salmonella* Paratyphi A (2,5-5,0); *Salmonella* Paratyphi B (10,0); *Escherichia coli* (5,0-10,0); *A. niger* (30,0); *Botrytis allii* (3,7); *Colletotrichum lini* (0,9); *Fusarium solani* var. *coeruleum* (1,9); *Fusarium culmorum* (3,75); *Stemphylium sarciniforme* (7,5); *Penicillium digitatum* (30,0); *P. expansum* (15,0); *Trichoderma viride* (>160,0); *Trichothecium roseum* (3,75).

Эффекты, оказываемые на животных и человека

Глиотоксин проявляет выраженный иммуносупрессивный эффект. Показана способность данного вещества индуцировать апоптоз у клеток различных типов: макрофагов,

тимоцитов, в лимфоидной ткани селезенки и лимфатических узлов, эпителия почек, фибробластов. Глиотоксин также вызывает апоптоз звездчатых клеток печени в концентрациях в 10-100 раз меньше, чем при индукции апоптоза гепатоцитов. Wright M.C. и соавторы (2001) полагают, что этот эффект может стать основой для терапии цирротических поражений печени, поскольку звездчатые клетки являются триггерами таких процессов. Бис-детео-бис(метилтио)-глиотоксин не обладает гепатокосическим действием. Нефротоксический эффект глиотоксина проявляется при сочетанном воздействии с TNF α (фактором некроза опухолей α ; по Zhou et al., 1999). Противоопухолевую активность глиотоксина впервые обнаружил Kidd J.G. в 1947 г.

Глиотоксин не является необходимым компонентом для реализации вирулентности у *A. fumigatus*, но, в значительной степени, определяет ее силу [6]. В экспериментальной модели аспергиллеза на мышах выживаемость возрастает в сравнении с контрольной группой, если использовать в качестве возбудителя штаммы, не продуцирующие глиотоксин. Это, в частности, можно достичь вводом мутации *gliPD*, тем биосинтез глиотоксина прерывается на начальном этапе [2]. По-видимому, продукция глиотоксина возбудителем в организме больного аспергиллезом – одна из ведущих причин развития острой почечной недостаточности при этом заболевании (Zhou et al., 1999).

Дополнительные эффекты действия глиотоксина связаны с подавлением продукции цитокинов TNF α (фактор некроза опухолей α) и IL-1 (интерлейкин-1). Показатели токсичности глиотоксина для животных приведены в таблице 3.

Таблица 3

Токсичность глиотоксина для животных

Животное	Показатель	Способ затравки	Значение (мг/кг)
мышь	LD ₅₀	внутрибрюшинно	32
		внутривенно	7,8
		Per gaster	67
		подкожно	25
кролик	LD ₁₀ *	внутривенно	45
хомяк		Per gaster	25
крыса		внутривенно	45

LD₁₀ — the lowest lethal dose – наименьшая летальная доза вещества, при которой в выборке гибнет хотя бы одно животное.

Молекулярные механизмы действия

Действие глиотоксина связано с реакционной активностью его дисульфидной группы. Воздействие на различные живые объекты, подвергшиеся действию глиотоксина низкомолекулярными тиолами, приводит к нивелированию эффектов этого яда.

Важнейшие эффекты глиотоксина связаны с подавлением образования семейства транскрипционных (ядерных) факторов NF- κ B/Rel. Это группа белков, участвующих в реализации действия многих сигнальных систем, в том числе – в процессах активации иммунокомпетентных клеток под действием цитокинов, а также в предотвращении апоптоза. В неактивном состоянии белки NF- κ B связаны в цитоплазме с белками-ингибиторами, в том числе – I κ B α (α -ингибитор ядерного фактора κ B). При стимуляции сигнальных систем белок I κ B α подвергается ферментативной модификации: фосфорилированию по Ser32 и Ser36, а также убиквитинилированию по Lys21 и Lys22 (возможно также по Lys38 и Lys47). После этого превращения он становится доступным субстратом для протеасомы 20S, которая его гидролизует.

Протеасома 20S (EC:3.4.25.1) – это высокомолекулярная внутриклеточная протеаза (\approx 700 kDa) с четвертичной структурой, состоящая из 7 пар α и 7 пар β -субъединиц. У эукариот аминокислотная последовательность каждой из 7 субъеди-

ниц обоих классов имеет свои особенности. Субъединицы формируют кольца по 7, а полная молекула протеасомы имеет вид канала, где кольца из β -субъединиц расположены на открытых концах. Белки протеасомы гидролизуют по различным сочетаниям аминокислот, поскольку проявляют трипсин-подобную, химотрипсин-подобную и пептидилглутамил-пептидгидролазную активности. 3 соответствующих каталитических домена расположены внутри комплекса. Протеасомы выявлены у многих живых организмов – от архей до человека. Их функция в клетке – внелизосомальная деградация различных отработанных белков, которые распознаются протеасомами обычно после посттрансляционной модификации, в большинстве случаев – после присоединения убиквитина.

Благодаря действию протеасомы белки NF- κ B/Rel освобождаются от ингибиторов, проникают в ядро клетки и вызывают экспрессию соответствующих генов.

Глиотоксин подавляет активность протеасомы, главным образом, ее химотрипсин-подобный домен (табл. 4), из-за чего в цитоплазме накапливается интактный I κ B α (интересно, что глиотоксин в аналогичных концентрациях почти не подавляет активность пептидаз сходного действия – трипсина, химотрипсина и кальпаина).

Таблица 4

Действие глиотоксина на 3 каталитических домена протеасомы 20S (Kroll M. et al., 1999)

Вид каталитической активности	% ингибиции при различной концентрации глиотоксина (действие на 5 мкг чистой протеасомы 20S)	
	100 мкмоль	40 мкмоль
Химотрипсин-подобная	95	72
Трипсин-подобная	37	39
Пептидилглутамилгидролазная	34	6

При наличии этого ингибитора NF- κ B не могут более вызывать экспрессию генов антиапоптотических белков (с-IAP1, с-IAP2, IEX-1L). Этот процесс сопровождается накоплением в клетке проапоптотического белка p53 (Kroll M. et al., 1999). Индуцированный процесс апоптоза протекает по пути активации каспазы-3-подобных белков и сопровождается фрагментацией ДНК с утратой клетки части хромосом (образованием гиподиплоидных ядер), снижением мембранного потенциала в митохондриях (Zhou et al., 1999).

У глиотоксина предполагают и другой механизм действия: вступая в процесс работы цитохромов, глиотоксин приводит к образованию супероксид-аниона-радикала (Waring & Beaver, 1996), инициируя окислительный стресс.

Альтернативный механизм индукции апоптоза глиотоксином связывают с фосфорилированием гистона H3 посредством активации протеинкиназы A на фоне высокого уровня цАМФ (Waring et al., 1997).

Глиотоксин также блокирует ферменты – фарнезилтрансферазу и геранилгеранилтрансферазу.

Показатели действия глиотоксина на отдельные ферменты и микроорганизмы приведены в таблице 5.

Таблица 5

Концентрации полумаксимального ингибирования (IC₅₀) для глиотоксина [4]

Объекты (отдельные ферменты и микроорганизмы)	IC ₅₀ , нмоль
Микроорганизмы	
<i>Candida albicans</i>	3100 нмоль
<i>Plasmodium falciparum</i> K1/Thailand	3600 нмоль
<i>Trypanosoma brucei brucei</i>	10 нмоль
Линии клеток человека	
Клетки рака легкого (линия A549)	3 нмоль
Эндотелий пупочной вены (линия HUVEC50)	123 нмоль
T-клеточная лейкемия (линия СЕМ)	150 нмоль

Клетки аденокарциномы шейки матки (линия HeLa)	2450 нмоль
Отдельные ферменты микроорганизмов и человека	
α -субъединица фарнезилтрансферазы/ геранилгеранилтрансферазы 1 типа из клеток человека	1100 - 17000 нмоль
Каталитическая субъединица митохондриальной ацетолата-синтазы <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S288c	200 нмоль
Микотиол-S-коъюгатамидаза <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	50000 нмоль

Продуценты глиотоксина и получение его из культуры

Продукцию глиотоксина обнаружили у следующих видов грибов: *Gliocladium fimbriatum* (штаммы этого вида используют для промышленного изготовления чистого глиотоксина с целью продажи), *G. virens*, *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. awamori*, *A. sydowii*, *A. terreus*, *Eurotium chevalieri*, *Trichoderma viride*, *T. harzianum*, *T. lignosum*, *Penicillium terlikowskii* (*Penicillium jensenii*), *P. corylophilum*, *P. obscurum*, *Alternaria* sp., *Thermoascus* spp. Некоторые авторы сообщают о синтезе глиотоксина у *C. albicans*, но для окончательного установления этого факта пока недостаточно экспериментальных доказательств [7]. Среди аспергиллов секции Fumigati – основных возбудителей инвазивного аспергиллеза – глиотоксин синтезирует, помимо *A. fumigatus*, также *Neosartorya pseudofischeri*. Большинство «криптических» видов этой секции глиотоксин не образуют (*A. lentulus*, *A. fumigatiifinis*, *A. novofumigatus*, *N. fischeri*, *N. spinosa*, *N. hiratsukae*, *N. udagawae*), что возможно использовать в комплексе тестов видовой идентификации [8].

Для биосинтеза глиотоксина необходимо наличие в среде ионов Zn⁺² и Mn⁺².

При поверхностном культивировании *A. fumigatus* на жидкой среде Чапека-Докса в течение 7 суток при 24-28 °C удается получить выход глиотоксина – 70-80 мкг/мл, фумигацина – 3-24 мкг/мл и фумигатиона \approx 100 мкг/мл. Среда для продукции глиотоксина культурой *Trichoderma viride* имеет следующий состав: глюкоза – 2,5%, аммония тартрат – 0,2%, K₂HPO₄ – 0,2%, MgSO₄·7H₂O – 0,1%, FeSO₄ – 0,001% (pH 3,0-4,0).

Для выделения глиотоксина из бульонной культуры пригодны несколько способов, один из них состоит в том, что культуральную жидкость смешивают с хлороформом, проводят дистилляцию, а остаток растворяют в горячем этаноле. На холоде глиотоксин осаждается в форме кристаллов.

Методы обнаружения

Для обнаружения глиотоксина в различных субстратах ряд авторов предложили метод ИФА. Поскольку глиотоксин является гаптенем, для иммунизации лабораторных животных использовали его конъюгаты с тироглобулином (Fox M. et al., 2004) и рекомбинантным белком наружной мембраны *Borrelia burgdorferi* (OspC). Моноклональные антитела, созданные с использованием последнего конъюгата, выпускают в промышленности (American Diagnostica GmbH).

Domingo M. и соавторы для выявления глиотоксина и бис-метилтиоглиотоксина в сыворотке человека применяли количественную высокопроизводительную тонкослойную хроматографию [9]. В этом методе из сыворотки обследуемого лица получают дихлорметановый экстракт, разделяют его компоненты на хроматографической пластинке, окрашивают ее флуоресцентными красителями и визуализируют продукты в ультрафиолетовом свете. Порог обнаружения искомого вещества составил менее 5 нг/мл. Описанный тест авторы предложили для экспресс-диагностики аспергиллеза.

Некоторые сходные по структуре соединения (по данным PubChem): глиотоксин G1 (*A. fumigatus*, *A. terreus*);

глиотоксин G2 (*A. fumigatus*, *A. terreus*); эпиқоразины А и В (*Epicoosum nigrum*); фомалиразин (*Phoma lingam*) и некоторые другие.

Из культуры штамма *Penicillium* sp., найденного в отложениях тихоокеанского дна, выделили глиотоксин и еще 6 сходных метаболитов, включая глиотоксин G. Как оказалось, они уступают глиотоксину по способности индуцировать апоптоз (у линии клеток лейкоза мышей P388) и блокировать гистонметилтрансферазу G2a [10].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Поскольку механизм действия глиотоксина связан с реакциями, опосредованными его дисульфидной группой, целесообразно опробовать *in vivo* (в модельном эксперименте на животных) применение терапевтических тиосоединений как возможных вспомогательных средств лечения аспергиллеза.

Учитывая, что глиотоксин вырабатывают не все условно-патогенные представители рода *Aspergillus*, в диагностике аспергиллеза тест обнаружения глиотоксина в сыворотке не сможет конкурировать, например, с определением галакто-

маннанового антигена. Однако положительный результат определения, очевидно, немаловажен для оценки прогноза заболевания.

Как видно по возрасту источников, данные по антимикробному действию глиотоксина давно не пересматривали. Из указанных источников невозможно даже точно установить все детали использованного авторами протокола определения чувствительности, в том числе – и состав сред, на которых производили определение. Этот вопрос также может быть актуальным для разрешения современными исследователями.

Достаточно слабо изучены аналоги глиотоксина, образующие другими грибами: возможно, среди них есть менее токсичные вещества, более перспективные для терапевтической разработки.

Работа выполнена при поддержке гранта им. профессора Э.Э. Эйхвальда и гранта «УМНИК» Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (договор № 4161ГУ1/2014).

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Kwon-Chung K.J., Sugui J.A. What do we know about the role of gliotoxin in the pathobiology of *Aspergillus fumigatus*?// *Medical Mycology*. – 2009. – Vol. 47, Suppl. 1. – p. 97-103.
2. Sugui J.A., et al. Gliotoxin is a virulence factor of *Aspergillus fumigatus*: gliP deletion attenuates virulence in mice immunosuppressed with hydrocortisone// *Eucaryotic Cell*. – 2007. – Vol. 6, №9. – P. 1562-1569.
3. Zhang H.-W., Ying C., Tang Y.-F. Four ardeemin analogs from endophytic *Aspergillus fumigatus* SPS-02 and their reversal effects on multidrug-resistance tumor cells// *Chemistry & Biodiversity*. – 2014. – Vol. 11, Is.1. – P. 85-91.
4. <http://www.scbt.com/datasheet-201299-gliotoxin.html>
5. <https://www.caymanchem.com/app/template/Product.vm/catalog/11433>
6. Rementeria A., et al. Genes and molecules involved in *Aspergillus fumigatus* virulence// *Rev. Iberoam. Micol.* – 2005. – №22. – P. 1-23.
7. Bertling A., et al. *Candida albicans* and its metabolite gliotoxin inhibit platelet function via interaction with thiols// *Thrombosis and Haemostasis*. – 2010. – Vol. 104, Is. 2. – P. 270-278.
8. Hong S.-B., et al. Polyphasic taxonomy of *Aspergillus fumigatus* and related species// *Mycologia*. 2005. – Vol. 97, №6. – P. 1316-1329.
9. Domingo M., et al. Fast and sensitive detection of the mycotoxin gliotoxin and related compounds during human aspergillosis// 21st ECCMID. Abstract № P1949. – 2011.
10. Sun Y., et al. Gliotoxin analogues from a marine-derived fungus, *Penicillium* sp. and their cytotoxic and histone methyltransferase inhibitory activities// *J. Nat. Prod.* – 2012. – Vol. 75. – P. 111-114.

Поступила в редакцию журнала 11.03.2015

Рецензент: И.А. Босак



СЛУЧАЙ ДИССЕМНИРОВАННОГО ИНВАЗИВНОГО АСПЕРГИЛЛЕЗА У БОЛЬНОГО ОСТРЫМ ЛЕЙКОЗОМ СО СМЕШАННЫМ ФЕНОТИПОМ И НЕЙРОЛЕЙКОЗОМ

Богданов А.Н. (проф. кафедры)^{1,2}, Семелев В.Н. (нач. отд.)¹, Тараканова Л.А. (клин. ординатор)^{1*}, Живописцева А.М. (асс. кафедры)¹, Клишко Н.Н. (зав. кафедрой)³, Шадринова О.В. (асс. кафедры)³, Бологов С.Г. (зам. нач. кафедры)¹, Богомолова Т.С. (зав. лаб.)³, Игнатиева С.М. (в.н.с.)³, Тыренко В.В. (нач. кафедры)¹

¹Военно-медицинская академия имени С.М.Кирова; ²Санкт-Петербургский государственный университет; ³НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург Россия

©Коллектив авторов, 2015

В статье представлено описание случая инвазивного аспергиллеза с поражением легких, головного мозга и щитовидной железы у больного острым лейкозом со смешанным фенотипом и нейролейкозом. Несмотря на адекватную цитостатическую и антимикотическую терапию, наступил летальный исход.

Ключевые слова: аспергиллез, головной мозг, легкие, нейролейкоз, острый лейкоз со смешанным фенотипом, щитовидная железа

A CASE OF DISSEMINATED INVASIVE ASPERGILLOSIS IN A PATIENT WITH ACUTE LEUKEMIA WITH MIXED PHENOTYPE AND NEUROLEUKEMIA

Bogdanov A.N. (professor of the chair)^{1,2}, Semelev V.N. (head of the department)¹, Tarakanova L.A. (clinical physician)¹, Jivopistseva A.M. (assistant of the chair)¹, Klimko N.N. (head of the chair)³, Shadrivova O.V. (assistant of the chair)³, Bologov S.G. (deputy head of the chair)¹, Bogomolova T.S. (head of the laboratory)¹, Ignatieva S.M. (leading scientific collaborator), Turenko V.V. (head of the chair)¹

¹S.M. Kirov Military Medical Academy; ²St.Petersburg State University; ³Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

©Collective of authors, 2015

The case of invasive aspergillosis with lung, brain and thyroid gland involvement in patient with a mixed phenotype acute leukemia has been presented in the article. Despite of the adequate cytostatic and antifungal treatment the fatal outcome was registered.

Key words: aspergillosis, brain, CNS leukemia, lungs, mixed phenotype acute leukemia, thyroid gland

ВВЕДЕНИЕ

Инфекционные осложнения являются важной причиной летальности при остром лейкозе (ОЛ). В последние годы возросло значение грибковых инфекций, прежде всего, инвазивного аспергиллеза (ИА) [1]. Наибольшему риску возникновения ИА подвержены больные острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) в период проведения цитостатической терапии (5-24%), из них более чем в половине случаев (60%)

инвазивный микоз развивается на фоне нейтропении после первой линии химиотерапии (индукции ремиссии) [2, 3]. Наиболее часто при ИА развивается поражение легких (80-90%), экстрапульмональный аспергиллез возникает преимущественно вследствие гематогенной диссеминации [4].

У подавляющего большинства пациентов с ОЛ выявляют миелоидный или лимфобластный (ОЛЛ) вариант заболевания, однако возможно одновременное обнаружение в бластных клетках маркеров миелоидной и лимфоидной линий гемопоэза [5]. Для обозначения таких случаев ранее использовали термины «гибридный ОЛ», «билинейный ОЛ» и «бифенотипический ОЛ». В соответствии с классификацией ВОЗ 2008 г. [6], принято название «mixed phenotype acute leukemia», т.е. ОЛ со смешанным фенотипом. Нейролейкоз характерен, прежде всего, для детского ОЛЛ и неходжкинских лимфом, в этих случаях необходимо профилактическое интратекальное введение цитостатических препаратов [7]. Специфическое поражение центральной нервной системы при ОМЛ отмечают крайне редко [8].

Мы наблюдали случай диссеминированного ИА с поражением легких, головного мозга и щитовидной железы у больного острым лейкозом со смешанным фенотипом и нейролейкозом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для постановки диагноза ИМ использовали клинические и лабораторные критерии, предлагаемые Европейской организацией по исследованию и лечению рака (EORTC/MSG, 2008) [9]. Наличие галактоманна в сыворотке крови определяли двойным иммуноферментным методом (EIA) «Platelia Aspergillus». Диагностически значимым считали индекс оптической плотности выше «0,5». Из аутопсийного материала готовили гистологические препараты, окрашивая срезы гематоксилином-эозином, проводили PAS-реакцию и окраску по методу Гомори-Грокотта для выявления элементов гриба.

Описание клинического случая. Больной К., 41 год, поступил в клинику факультетской терапии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова 27.02.14 г. с жалобами на выраженную общую слабость, потливость, озноб, периодические подъемы температуры тела до 38,5 °С. При объективном обследовании выявили петехии на коже туловища и конечностей, гепатоспленомегалию, в остальном – без особенностей.

В день поступления на основании общего анализа крови (эр. – 2,76·10¹²/л, Нб. – 95 г/л, тр. – 34·10⁹/л, л. – 90,3·10⁹/л, недифференц. бласты –28,5%), цитологического и цитохимического исследования костного мозга (клеточный костномозговой пунктат, эритропоэз представлен единичными эритрокариоцитами, мегакариоциты в препаратах отсутствуют, бластных клеток – 60,4%, реакция на миелопероксидазу в бластах отрицательная), анализа спинномозговой жидкости (цитоз – 4/3) был установлен предварительный диагноз «острый лимфобластный лейкоз». Начата предфаза согласно протоколу «ОЛЛ-2009» (преднизолон 60 мг/м²). Назначена сопроводительная антибактериальная терапия (амикацин 1,5 г/сут., цефуроксим 4,5 г/сут.) с положительным эффектом в виде нормализации температуры на третий день. 03.03.14 г. на основании цитогенетического и иммунофенотипического исследования костного мозга установлен диагноз: острый лейкоз со смешанным фенотипом (Т/миелоидный лейкоз). Высокий риск. Первая атака. С учетом лейкоцитоза в проводимую терапию добавлен противоопухолевый антиметаболит гидреа в дозе 1 г/сутки.

* Контактное лицо: Тараканова Людмила Александровна, e-mail: dortmund89@mail.ru

06.03.14 г. у пациента появились жалобы на выраженную «диффузную» головную боль, не купирующуюся приёмом анальгетиков, нарастание общей слабости. При осмотре неврологом выявлены положительные симптомы Брудзинского и Кернига. На МРТ головного мозга: субкортикально, супра- и паравентрикулярно передним и задним рогам боковых желудочков в белом веществе головного мозга визуализировали участки гиперинтенсивного МР-сигнала размерами от 2 до 4 мм, в кортикальных отделах левой теменной доли – единичные (не менее 3-х) участки повышения МР-сигнала размерами до 4-5 мм, соответствующие свежим ишемическим изменениям (по типу лакунарных инсультов); обнаружили утолщение менингеальных оболочек вдоль серпа мозга до 2 мм, наиболее вероятно – воспалительного генеза. При анализе ликвора – цитоз 400/3. На основании полученных данных диагностировали нейролейкоз, начата специфическая терапия (интратекальное введение дексаметазона 4 мг, цитозара 30 мг, метотрексата 15 мг с интервалом 2-3 дня).

С 07.03.14 г. начат 1-й курс индукции по протоколу «RACOP» (даунорубин 45 мг/м², цитарабин 100 мг/м² 2 раза в сутки, циклофосфамид 400 мг/м², винкристин 2 мг, дексаметазон 10 мг/м²). В период проведения индукции с 11.03.14 г., несмотря на проводимую антибактериальную терапию и профилактическое применение ко-тримоксазола, отмечали отрицательную клиническую динамику в виде появления фебрильной лихорадки до 39,0 °С и кашля со скудно отделяемой светлой мокротой. На контрольной рентгенограмме органов грудной клетки выявили инфильтрацию легочной ткани в сегментах S3, S4 правого легкого. Учитывая наличие у пациента факторов риска развития инвазивного микоза, инфекционного синдрома и рентгенологической симптоматики, больному эмпирически назначен вориконазол в дозе 400 мг/сут., взят анализ крови на галактоманнан.

На основании наличия факторов риска, клинических, лабораторных (положительный тест на галактоманнан сыворотки крови, индекс оптической плотности – 4,76) признаков и рентгенологических изменений диагностировали инвазивный аспергиллез легких. Лечение вориконазолом продолжено в стандартной дозировке. С 17.03.14 г. отмечали прогрессирование неврологической симптоматики (развитие сопора), цитоз ликвора увеличился до 2800/3, появилась дыхательная недостаточность (ЧД 24-28 в мин.). При объективном обследовании обращало на себя внимание притупление перкуторного тона над верхними и средними отделами правого легкого, аускультативно – ослабление дыхания в тех же проекциях.

18.03.14 г. повторно выполнена МРТ головного мозга. По сравнению с предыдущими данными, наблюдали отрицательную динамику в виде появления новых и увеличения в размерах старых очагов в веществе головного мозга, окруженных зонами перифокального отека (Рис. 1).

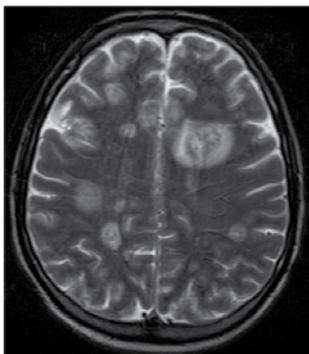


Рис. 1. МРТ головного мозга от 14.03.14

Полученные клиничко-лабораторные и инструментальные данные были расценены как прогрессирование нейролейкоза. По данным КТ органов грудной клетки: по всем лёгочным полям визуализируется интенсивная альвеолярно-интерстициальная очаговая инфильтрация лёгочной ткани с тенденцией к формированию крупных фокусов в нижней доле правого лёгкого (Рис. 2).

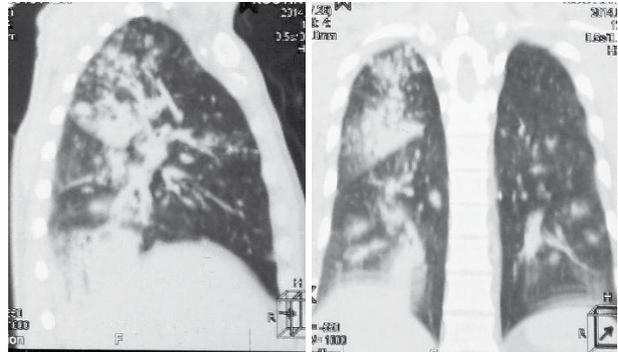


Рис. 2. КТ органов грудной клетки от 18.03.14. в 2-х проекциях

На фоне проводимой противогрибковой терапии вориконазолом отмечали нормализацию температуры тела на 5-е сутки, однако нарастала неврологическая симптоматика с развитием комы II, прогрессировала дыхательная недостаточность, в связи с чем 19.03.14 г. пациент был переведен в отделение реанимации и интенсивной терапии. С целью интенсификации лечения нейролейкоза было выполнено системное введение высокой дозы метотрексата (3,5г/м²). В связи с нарастанием дыхательной и сердечно-сосудистой недостаточности пациент переведен на ИВЛ и инотропную поддержку дофамином. На фоне прогрессирующей полиорганной недостаточности 21.03.14 г. констатирован летальный исход.

Патологоанатомическим исследованием подтвержден диагноз острого лейкоза, нейролейкоза с многоочаговым поражением вещества головного мозга и оболочек. При прямой микроскопии ткани головного мозга и лёгких обнаружили септированный мицелий, ветвящийся под острым углом (Рис. 3). При посеве из тканей выделен *Aspergillus fumigatus*. По результатам микологического исследования аутопсийного материала диагностировали сепсис грибковой этиологии, обусловленный *A. fumigatus*, с поражением вещества головного мозга, лёгких и щитовидной железы.



Рис. 3. Мицелий *Aspergillus fumigatus*, ветвящийся под острым углом

ОБСУЖДЕНИЕ

Частота острого лейкоза со смешанным фенотипом в различных регионах мира составляет 2-5% всех случаев ОЛ [5]. Лечение этого варианта ОЛ проводят по программам ОМЛ и/или ОЛЛ, однако общепринятый алгоритм цитостатической терапии отсутствует, а ее результаты хуже, чем при ОЛ с вовлечением одной клеточной линии [10]. Выбор нами протокола RACOP обусловлен наличием в этой программе

цитостатиков, которые используют как при ОЛЛ, так и при ОМЛ. У больных ОЛЛ частота нейролейкоза при отсутствии его профилактики составляет 40-50%, при ОМЛ – не превышает 5% [7, 8]. В научной литературе мы не обнаружили данных о частоте нейролейкоза при остром лейкозе со смешанным фенотипом. Лечение нейролейкоза общепринятой комбинацией препаратов (дексаметазон, метотрексат, цитозар) не позволило купировать специфическое поражение центральной нервной системы.

Грибковые инфекции являются важнейшей причиной летальных исходов при ОЛ. По результатам аутопсий, проведенных за период с 2001 по 2010 г. в Ленинградской областной клинической больнице г. Санкт-Петербурга, частота ИА за этот период возросла с 0,59 до 3,77% [11]. По данным последнего международного исследования, наиболее высокий риск возникновения ИА отмечали у больных ОМЛ (18%) и реципиентов алло-ТГСК (аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток) (9%) [12].

Клинические признаки ИА, как правило, неспецифичны, комплексная диагностика включает компьютерную томографию легких, определение антигена *Aspergillus* (галактомана) в бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ) и в сыворотке крови, микроскопию и посев БАЛ на мицелиальные грибы. Инвазивный аспергиллез в отсутствие своевременной терапии сопровождается высокой летальностью, поэтому при вы-

соком риске развития (нейтропения, лихорадка, рефрактерная к адекватной антибактериальной терапии более 96 часов) проводят эмпирическую антифунгальную терапию [13]. При выраженной иммуносупрессии возможна гематогенная диссеминация аспергиллезной инфекции с поражением различных органов и систем. Наиболее высокую летальность (более 90%) отмечают при поражении центральной нервной системы [14].

У пациента диагностировали аспергиллез легких, головного мозга и щитовидной железы, позднее подтвержденный данными аутопсии. Несмотря на своевременно начатую адекватную антимикотическую терапию, возникла диссеминация инфекционного процесса, развитию которой, вероятно, способствовало наличие предшествующего нейролейкоза, при котором достоверно увеличивается проницаемость гематоэнцефалического барьера [Дворский О.В. Автореф. дис... к.м.н. – Л., 1984]. Аспергиллез щитовидной железы выявляют крайне редко (за 110 лет описано 62 случая), и при жизни его практически не диагностируют [15].

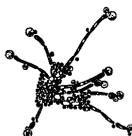
Представленный клинический случай характеризует трудности диагностики и лечения редкого варианта гематологической неоплазии (острый лейкоз со смешанным фенотипом), осложнившегося инвазивным аспергиллезом легких, щитовидной железы и сочетанным поражением головного мозга (инвазивный аспергиллез, нейролейкоз).

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Leventakos K., Lewis R.E., Kontoyiannis D.P. Fungal infections in leukemia patients: how do we prevent and treat them? // Clin Infect Dis. – 2010. – Vol. 50, №3. – P. 405-415.
2. Girmenia C., Micozzi A., Piciocchi A., et al. Invasive fungal diseases during first induction chemotherapy affect complete remission achievement and long-term survival of patients with acute myeloid leukemia // Leukemia Research. – 2014. – Vol. 38. – P. 469-474.
3. Herbrecht R., Bories P., Moulin J.C., Ledoux M.P. Risk stratification for invasive aspergillosis in immunocompromised patients // Ann. of the New York Academy of Sciences. – 2012. – Vol. 1272. – P. 23-30.
4. Walsh T.J., Gamaletsou M.N. Treatment of fungal disease in the setting of neutropenia. ASH Education Book. – 2013. – № 1. – P. 423-427.
5. Yan L., Ping N., Zhu M., et al. Clinical, immunophenotypic, cytogenetic, and molecular genetic features in 117 adult patients with mixed-phenotype acute leukemia defined by WHO-2008 classification. Haematologica. – 2012. – Vol. 97, №11. – P. 1708-1712.
6. James W. Vardiman J.W., Thiele J., Bloomer C.D., et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. DOI: <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2009-03-209262>.
7. Pui C.-H., Thiel E. Central nervous system disease in hematological malignancies: historical perspective and practical applications // Semin. Oncol. – 2009. – Vol. 36(4 Suppl 2). – S2-S16.
8. Bommer B., von Harsdorf S., Döhner D., et al. Neoplastic meningitis in patients with acute myeloid leukemia scheduled for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation // Haematologica. – 2010. – Vol. 95, №11. – P. 1969-1972.
9. Segal B.H., et al. Defining Responses to Therapy and Study Outcomes in Clinical Trials of Invasive Fungal Diseases: Mycoses Study Group and European Organization for Research and Treatment of Cancer Consensus Criteria (EORTC/MSG) // Clin. Infect. Dis. – 2008. – Vol. 47. – P. 675-677.
10. Weinberg O.K., Arber D.A. Mixed-phenotype acute leukemia: historical overview and new definition. Leukemia. – 2010. – Vol. 24. – P. 1844-1851.
11. Кораблина И.М., Цинзерлинг В.А., Аравийский Р.А. Аспергиллез по данным аутопсий в Ленинградской областной клинической больнице с 2001 по 2010 г. // Проблемы медицинской микологии. – 2011. – Т. 13, № 2. – С. 45-49.
12. Donnelly J., Peter A. European period-prevalence study to estimate the rate of invasive pulmonary mould disease (PIMDA study) (Электронный ресурс) / J. Peter Donnelly // ECCMID. – online lecture library. – 2014. – P0028a. – Режим доступа : <https://www.escmid.org/>.
13. Клишко Н.Н., Хостелиди С.Н. Особенности профилактики, эмпирической и превентивной терапии инвазивных микозов. Учебное пособие. – СПб.: Изд. СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2013. – 36 с.
14. Диагностика и лечение микозов в отделениях реанимации и интенсивной терапии. Российские национальные рекомендации / ред. Н. Н. Клишко – М.: Боргес, 2010. – 92 с.
15. Thada N.D., Prasad S.C., Alva B., et al. A rare case of suppurative aspergillosis of the thyroid // Case Rep. Otolaryngol. – 2013.

Поступила в редакцию журнала 23.03.2015

Рецензент: Р.М. Черноятова



ЛИТИЧЕСКИЙ ЭНДОФАКТОР У МИКРОМИЦЕТОВ, СОСТАВЛЯЮЩИХ БАНК КУЛЬТУР – ПРОДУЦЕНТОВ АЛЛЕРГЕНОВ

Журавлева Н.П. (в.н.с.), Елинов Н.П. (проф. кафедры),
Васильева Н.В. (директор института, зав. кафедрой),
Соловьева Г.И. (в.н.с.), Босак И.А. (с.н.с.)

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

© Коллектив авторов, 2015

Продолжено изучение литического эндофактора у селекционированных штаммов микромицетов, составляющих банк культур – аллергопродуцентов. Приведены собственные исследования и обзор литературы по вирусам грибов – патогенов растений и человека. Разработаны оптимальные условия для выявления литического эндофактора у изучаемых штаммов-продуцентов аллергенов: *Rhizopus nigricans*, *Rhizomucor pusillus*, *Penicillium chrysogenum*, *P. verrucosum* var. *cytlopium*, *Cladosporium herbarum*. Штаммы этих грибов изучены, наряду с контрольными штаммами *Fusarium javanicum* var. *radicicola*, которые, как известно, содержат миковирус, и нами доказано симптоматически наличие в них эндовируса. Даны рекомендации по условиям хранения производственных штаммов микромицетов – аллергопродуцентов, чтобы избежать лизиса мицелия при спонтанном освобождении вирусных частиц.

Ключевые слова: вирусы микромицетов – продуцентов аллергенов и патогенов для человека, миковирусы

LYTIC ENDOFACTOR IN MICROMYCETES CONSTITUTING THE BANK OF CULTURES – PRODUCENTS OF ALLERGENS

Zhuravleva N.P. (leading scientific collaborator), Yelinov
N.P. (professor of the chair), Vasilyeva N.V. (director
of institute, head of the chair), Solovjova G.I. (leading
scientific collaborator), Bosak I.A. (senior scientific
collaborator)

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

©Collective of authors, 2015

Studying of lytic endofactor at in the selected micromycetes' strains included in bank of cultures –producers of allergens. Own data of investigation and review of literature over mycoviruses of fungi – pathogens for plants and man brought in this article. Worked out optimal conditions for reveal of lytic endofactor in examined strains of micromycetes – producers of allergens: *Rhizopus nigricans*, *Rhizomucor pusillus*, *Penicillium chrysogenum*, *P. verrucosum* var. *cytlopium*, *Cladosporium herbarum*. Strains of these micromycetes were studied along with control strains of *Fusarium javanicum* var. *radicicola* which, as we know, contain mycovirus and have established the presence of mycovirus in them symptomatically. Recommendations on storage conditions of production strains of micromycetes – allergoproducers to avoid lysis of the mycelium in the spontaneous release of virus particles were given.

Key words: micromycetes' viruses – producers of allergens and pathogens for man, mycoviruses

ВВЕДЕНИЕ

Инвазивные грибные инфекции – это оппортунистические инфекции, как правило, у иммунокомпрометированных больных, ассоциирующиеся с высокой степенью смертности. Кроме того, эти инфекции значительно усложняются при резистентности возбудителя к применяемому антимикотиче-

скому агенту. Следовательно, назрела потребность в новой терапевтической стратегии. В последних научных литературных источниках авторы рассматривают миковирус в качестве будущего агента биологического контроля за здоровьем человека [1].

Хотя ранние сообщения о миковирусах датируют 1960 г., знания исследователей о них все еще незначительны. Более того, опубликованные первоначально миковирусы – это вирусы экономически-значимых грибов, т.е. дрожжи и мицелиальные грибы, патогенные для растений. Расширение знаний в области миковирусов патогенных грибов для человека – важное орудие будущего в сражении с инвазивными грибными инфекциями.

Ныне известно много работ по обнаружению новых миковирусов фитопатогенных грибов [2- 8], относящихся к различным семействам. Как правило, во всех исследованиях выявлена ассоциация гиповирулентности фитопатогенных грибов с наличием миковируса. Однако в 2012 г. в клиниках Пакистана в 366 изолятах *Aspergillus fumigatus* – патогена человека найдены миковирусы различных групп – как двух, так и четырехфрагментных ds-РНК [9].

В 2013 г. в 86 клинических изолятах Роттердама в *A. fumigatus* выявлены также миковирусы. Авторы отмечают, что часто миковирус, имеющий в геноме ds-РНК, имеет причину гиповирулентности гриба [10]. Следовательно, миковирусы представляют интерес для будущей терапии как инструмент в сражении с грибной инфекцией.

В предыдущей нашей работе [11] мы показали наличие литического фактора у ряда микромицетов, входящих в коллекцию патогенных штаммов – продуцентов аллергенов. Внутриклеточный вирус был выявлен симптоматически в виде зон лизиса и негативных колоний на газоне ряда культур рода *Aspergillus* и *Alternaria*, в сравнении с контролем, ранее открытого нами, миковируса гриба *Fusarium javanicum* var. *radicicola* (F.j.v.r.). [12, 13]. Этот микромицет включен в наш банк производственных культур – продуцентов аллергенов, и подобраны условия его хранения от лизиса миковирусом.

Цель настоящего исследования – выявить наличие литического действия (ЛД) внутриклеточного миковируса у остальных культур микромицетов – патогенных для человека, входящих в коллекцию банка штаммов – аллергопродуцентов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования – селекционированные штаммы микромицетов, включенные в банк культур – продуцентов аллергенов, созданных нами ранее. Для выявления миковируса (МВ) отобраны 5 культур. Названия родов, видов и номера штаммов представлены в таблице.

Изначально генезис культур был следующий: *Cladosporium herbarum*, *Penicillium chrysogenum* и *Rhizopus nigricans* – из коллекции музея НИИ медицинской микологии им П.Н. Кашкина СЗГМУ им. И.И. Мечникова; *Penicillium verrucosum* var. *cytlopium* – из промывных вод бронхов больной бронхиальной астмой; *Rhizomucor pusillus* – от больного (из тромба легочной артерии). Контроль в опыте – *Fusarium javanicum* var. *radicicola* (F.j.v.r.), выделенный с руки больной, пораженной этим грибом, и содержащий внутриклеточный вирус, показанный нами ранее [12, 13]. Затем из популяции этих культур нами были селекционированы штаммы с маркерами типичности морфологии колоний и интенсивности прорастания спор и конидий [14-18].

Выявление МВ осуществляли в 2 этапа:

I-й этап – выявление зон лизиса мицелия на штаммах

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

Таблица

Лизис мицелия при хранении селекционированных штаммов микромицетов – продуцентов аллергенов

№ п/п	Наименование микромицета	№ штаммов	Срок хранения (мес.)	Название агаризованной среды	
				Сабуро с 4% глюкозы	Чапека-Докса
1	<i>Cladosporium herbarum</i>	922/26/80/15	1	-	
		-//-	3	-	
		-//-	5	-	
		922/26/80/19	1	-	
		-//-	3	-	
		-//-	5	+	
		922/26/80/32	1	-	
		-//-	3	+	
		-//-	5	++	
		2	<i>Penicillium chrysogenum</i>	1043/2/2/41	1
-//-	3				+
-//-	5				++
1043/2/2/51	1				-
-//-	3				-
-//-	5				++
1043/2/2/97	1				-
-//-	3				-
-//-	5				++
1043/2/2/99	1				-
-//-	3		+		
-//-	5		++		
3	<i>Penicillium verrucosum</i> var. <i>cytopium</i>	176/92/1/36	1		-
		-//-	3		-
		-//-	5		++
		176/92/1/72	1		-
		-//-	3		+
		-//-	5		++
		176/92/1/101	1		-
		-//-	3		+
		-//-	5		++
		4	<i>Rhizopus nigricans</i>	154/47/16	1
-//-	3			+	
-//-	5			++	
154/47/17	1			+	
-//-	3			+	
-//-	5			+++	
154/47/56	1			+	
-//-	3			+	
-//-	5			+	
5	<i>Rhizomucor pusillus</i>			158/13/74	1
		-//-	3	+	
		-//-	5	++	
		158/13/77	1	+	
		-//-	3	+	
		-//-	5	+	
		158/13/81	1	+	
		-//-	3	++	
		-//-	5	++	
		6	<i>Fusarium javanicum</i> var. <i>radicicola</i>	69/9/6	1
-//-	3			++	
-//-	5			++	
69/9/33	1			+	
-//-	3			++	
-//-	5			++	
69/9/37	1			+	
-//-	3			+	
-//-	5			++	
69/9/33/40	1			+	
-//-	3			+	
-//-	5			+++	
69 музейный	1			+++	
-//-	3			+++	
-//-	5			++++	

Условные обозначения:

++++ – слившиеся негативные колонии миковируса (н.к. МВ)
 +++ – много н.к. МВ; ++ – единичные н.к. МВ;
 + – редкие н.к. МВ; – – н.к. МВ отсутствуют

при хранении на косячках с агаризованными питательными средами: Сабуро с 4% глюкозы, сусло-агар, Чапека-Докса с 2% глюкозы, вместо сахарозы (модифицировано нами) в течение 1,3,5 месяцев при постоянной концентрации агара (к.а.) 2,0% и pH среды 6.5.

II-й этап – выявление зон лизиса на гигантских колониях штаммов одних культур с использованием контроля на агаре Сабуро с 4% глюкозы с к.а. 2,0%, pH 6,5 и на сусло-агаре, к.а. 2,0%, pH 6,5; опыта на сусло-агаре, к.а. 1,4%, pH 4,5. А также штаммов других культур с контролем на агаре Чапека-Докса, к.а. 2,0%, pH 6.5, опыта – на этой среде с к.а. 1,4%, pH 4,5; контроля – на сусло-агаре с к.а. 2,0%, pH 6,5, опыта – на этой среде с к.а. 1,4%, pH 4,5.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Мы продолжили наши исследования по выявлению миковируса у штаммов микромицетов, составляющих банк культур продуцентов аллергенов [11]. На I этапе наблюдали литическое действие (ЛД) внутриклеточного МВ при хранении штаммов грибов, приведенных в таблице.

Из таблицы следует, что на стандартных средах для роста и хранения культур ЛДМВ проявились в виде н.к., в зависимости от штамма и срока хранения. Так, на газоне штаммов *C. herbarum* н.к. МВ не выявлены у 1-го штамма на всех сроках хранения, у 2-го штамма редкие н.к. проявились через 5 месяцев хранения. У 3-его штамма редкие н.к. – через 3 месяца и единичные – через 5 месяцев.

На газоне *P. chrysogenum* у 2-х штаммов единичные н.к. наблюдали только на 5 месяце хранения. У остальных штаммов: редкие н.к. – на 3-ем месяце и единичные н.к. – на 5-ом.

На газоне *P. verrucosum* var. *cytopium* у 1-го штамма единичные н.к. отмечали на 5-ом месяце, у 2-го и 3-го штаммов редкие н.к. – на 3-ем и единичные н.к. – на 5-м месяце хранения.

У всех 3-х штаммов культур *R. nigricans* и *R. pusillus* редкие н.к. МВ выявили уже на 1-ом месяце хранения.

На газоне контрольной культуры *F. javanicum* var. *radicicola* ЛДМВ проявлены у всех штаммов также в зависимости от штамма и срока хранения, но намного раньше: на 1 месяце – редкие н.к., на 3 месяце – или редкие, или единичные н.к., через 5 месяцев – единичные или много н.к. МВ. Все селекционированные штаммы проявляли ЛДМВ по-разному (табл.). На музейном штамме *F.j.v.r.* ЛДМВ проявлялось сильнее, чем у селекционированных штаммов. Так, через 1 месяц хранения наблюдали много н.к. МВ, а на 5-ом – слившиеся н.к.

На II-ом этапе выявляли ЛДМВ на газоне гигантских колоний 6 культур микромицетов на стандартных питательных средах для хранения с к.а. 2,0% и pH 6,5 и на опытной среде – сусло-агаре с к.а. 1,4% и pH 4,5.

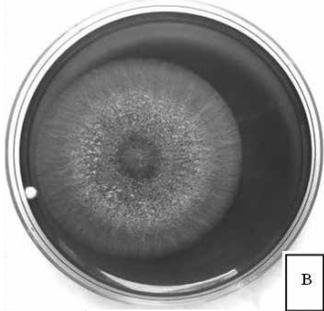
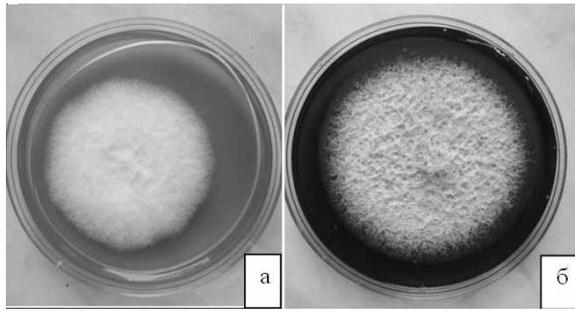


Рис. 1. Колонии *F. javanicum* var. *radicola*: а – контроль: агар Сабуро с 4% глюкозы, к.а. 2,0% рН 6,5; б – контроль: сусло агар, к.а. 2,0% рН 6,5; в – опыт: сусло агар, к.а. 1,4% рН 4,5

Рис.1а – колония на среде Сабуро агар с 4% глюкозы имеет полноценный рост с войлочным розовато-фиолетовым воздушным мицелием (вМ), н.к. редкие по всей поверхности колонии или отсутствуют (-; +) – контроль.

Рис.1б – колония на среде сусло-агар покрыта порошкообразным вМ серовато-желтоватого цвета, н.к. много (+++) по всей колонии, по краю колонии н.к. слившиеся, образуя слабое звездчатое кружево (+++) – контроль.

Рис.1в – колония на среде сусло-агар плоская, местами покрыта слабым вМ темно-розового цвета. Большая часть колонии (по краю и в центре) с лизированным мицелием, по всей поверхности много слившихся н.к. (++++) – опыт.

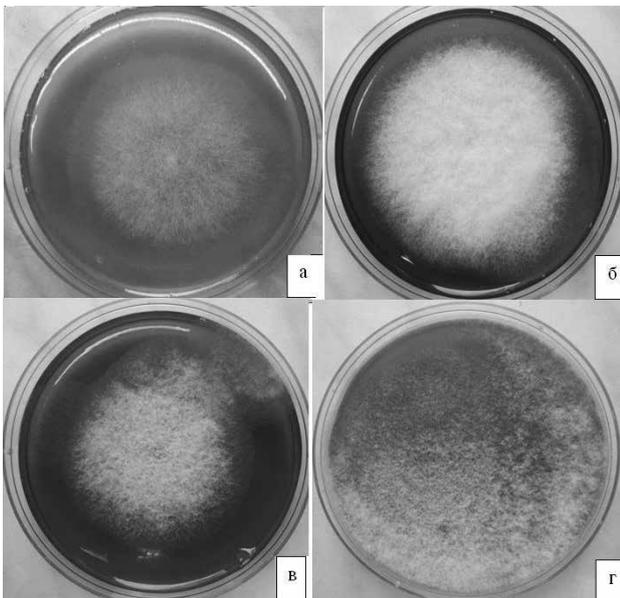


Рис. 2. Колонии *R. pusillus*: а – контроль: агар Сабуро с 4% глюкозы, к.а. 2,0% рН 6,5; б – контроль: сусло агар, к.а. 2,0% рН 6,5; в – опыт: сусло агар, к.а. 1,4% рН 4,5; г – опыт: газон сусло агар, к.а. 1,4% рН 4,5

Рис.2а – колония на среде Сабуро с 4% глюкозы имеет полноценный рост с ватообразным вМ бело-серого цвета, край неровный, н.к. редкие (+) по всей поверхности – контроль.

Рис.2б – колония на среде сусло-агар, вМ беловато-сероватого цвета, ватообразная, край неровный звездчатый, н.к. по всей поверхности, редкие (+) по краю – единичные (++) – контроль.

Рис.2в – колония на среде сусло-агар серовато-беловатого цвета в 2 раза меньше, чем на контрольной среде сусло-агар, край очень неровный покрыт слившимися н.к. (++++), по поверхности колонии много н.к. (+++) – опыт.

Рис.2г – газон гриба на среде сусло-агар. На поверхности газона гриба много н.к. (+++), половина газона полностью лизирована (++++) – опыт.

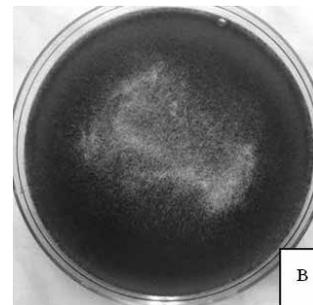
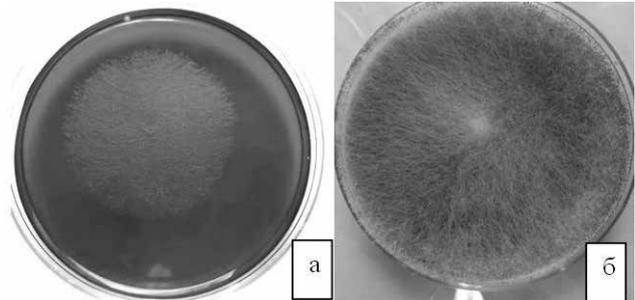


Рис. 3. Колонии *R. nigricans*: а – контроль: агар Сабуро с 4% глюкозы, к.а. 2,0% рН 6,5; б – контроль: сусло агар, к.а. 2,0% рН 6,5; в – опыт: сусло агар, к.а. 1,4% рН 4,5

Рис.3а – колония на агаре Сабуро бело-серого цвета, пушистая, н.к. по всей поверхности единичные (++) – контроль.

Рис.3б – колония на сусло-агаре серо-черного цвета, вМ пушистый, н.к. по всей поверхности колонии много (+++), на краю колонии н.к. слившиеся, образуют зоны лизиса мицелия (++++) – контроль.

Рис.3в – колония на сусло-агаре серо-черного цвета, н.к. много (+++) по всей поверхности колонии, большая часть мицелия лизирована МВ (++++) – опыт.

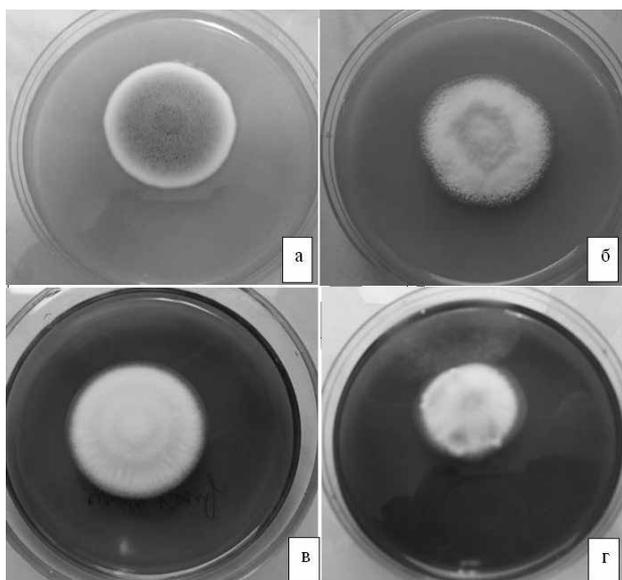


Рис. 4. Колонии *P. chrysogenum*: а – контроль: агар Чапека Докса (модифицированный), к.а. 2,0%, рН 6,5; б – опыт, агар Чапека Докса (модифицированный) к.а. 1,4% рН 4,5; в – контроль: сусло агар, к.а. 2,0%, рН 6,5; г – опыт: сусло агар, к.а. 1,4% рН 4,5

Рис.4а – колония на Чапека-Докса слабо радиальная-складчатая, вМ бархатистый в центре пуговкой, центр светло-зеленый, вся колония бежевого цвета, н.к. отсутствуют (–) – контроль.

Рис.4б – колония на Чапека-Докса бежевого цвета, край звездчатый, изъеденный со слабым вМ, н.к. больше по краю колонии слившиеся, образуя зону лизиса (+++) – опыт.

Рис.4в – колония на сусло-агаре слегка радиально-складчатая, центр выпуклый, вМ зеленовато-бежеватый, н.к. отсутствуют (–) – контроль.

Рис.4г – колония на сусло-агаре в 2 раза меньше контроля, в центре и по краям н.к. образуют пятна лизиса мицелия (+++) – опыт.

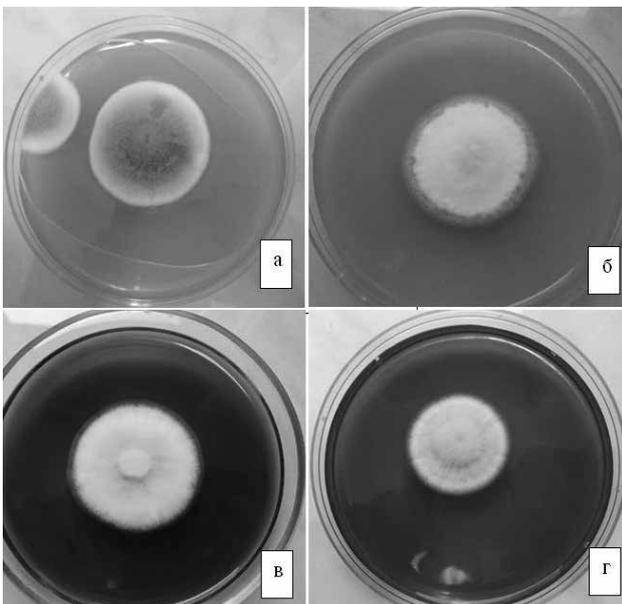


Рис. 5. Колонии *Penicillium verrucosum* var. *cyclopium*: а – контроль: агар Чапека Докса (модифицированный), к.а. 2,0%, рН 6,5; б – опыт, агар Чапека Докса (модифицированный) к.а. 1,4% рН 4,5; в – контроль: сусло агар, к.а. 2,0%, рН 6,5; г – опыт: сусло агар, к.а. 1,4% рН 4,5

Рис.5а – колония на агаре Чапека-Докса плоская, центр пуговкой, слегка радиально-складчатая, вМ светло-зеленого цвета, край с белым вМ, н.к. отсутствуют (–) – контроль.

Рис.5б – колония на агаре Чапека-Докса плоская с вМ бежевого цвета, край ажурный из слившихся н.к. (+++) – опыт.

Рис.5в – колония на сусло-агаре плоская, центр пуговкой, вМ в центре светло-зеленый, по всей колонии бежевый н.к. отсутствуют (–) – контроль.

Рис.5г – колония на сусло-агаре меньше в 1,5 раза контроля, н.к. отсутствуют (–) или редкие по краю колоний (+) – опыт.

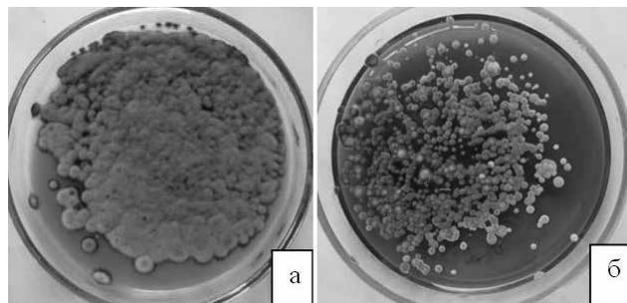


Рис. 6. Газон *C. herbarum*: а – контроль: агар Сабуро с 4% глюкозы, к.а. 2,0% рН 6,5; б – контроль: сусло агар, к.а. 2,0% рН 6,5; в – опыт: сусло агар, к.а. 1,4% рН 4,5

Рис.6а – газон гриба на агаре Сабуро, н.к. не обнаружены (–) – контроль.

Рис.6б – газон гриба на сусло-агаре более слабый, чем на агаре Сабуро, н.к. отсутствуют (–) – контроль.

Рис.6в – газон гриба на сусло-агаре сильно ослаблен, выросло 5 колоний гриба, н.к. отсутствуют (–) – опыт.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследованы 6 селекционированных культур микромицетов, представленных 20 штаммами и одним музейным, входящих в банк культур грибов-аллергопродуцентов, на содержание внутриклеточного микровируса. С этой целью разработаны оптимальные условия на питательных агаризованных средах.

На I этапе при использовании стандартных сред для роста и хранения культур грибов ЛДМВ выявили в разной степени активности на всех штаммах, в зависимости от культуры, штамма и срока хранения микромицета. ЛДМВ не отмечали только на одном штамме – *C. herbarum* (табл.).

На II этапе (Рис. 1-6) – наиболее оптимальные условия для провокации внутриклеточного вируса обнаружили на гигантских колониях на сусло-агаре с к.а. 1,4%, рН среды 4,5 всех испытанных культур, а также на контрольном и музейном штаммах *F.j.v.r.* На стандартных средах для хранения каждой культуры с к.а. 2,0%, рН 6,5 наблюдали 1-3 месяца редкие или единичные н.к. (+; ++), кроме штаммов *Penicillium* и *Cladosporium*, где н.к. МВ не выявлены. При опытных условиях на среде сусло-агар колонии у всех культур, кроме *Cladosporium*, в диаметре были в 1,5-2 раза меньше (по сравнению с колониями на стандартных средах). Как правило, у всех опытных колоний ЛДМВ проявилось в ажурном крае из слившихся н.к., особенно – на колониях зи-

гомицетов. У колоний р. *Penicillium* ЛДМВ менее выражено (+; ++). ЛДМВ на колониях *Cladosporium* не отмечали, кроме ослабленного роста при опытных условиях.

В связи с полученными результатами можно предположить, что изученные культуры плесневых, патогенных для человека грибов, возможно, все содержат вирусные частички в виде провируса. При оптимальных условиях для выявления вируса, он проявлялся в виде н.к. или зон лизиса мицелия исследованных микромицетов.

Как показано нами ранее, выявление МВ у грибов – патогенов для человека и аллергопродуцентов имеет большое значение как для фундаментальной науки, т.к. область грибной вирусологии мало изучена, так и для медицинской практики [13]. На инфекционном грибе *Aspergillus fumigatus* установлено, что миковирус, имеющий в геноме ds-РНК, часто является причиной гиповирулентности гриба [9, 10]. Следовательно, миковирус представляет интерес в перспективе для терапии как инструмент в борьбе с грибной инфекцией.

ВЫВОДЫ

1. Разработали симптоматическое выявление внутри-

клеточных вирусов у микромицетов, являющихся патогенами для человека и продуцентами аллергенов: *Rhizomucor pusillus*, *Rhizopus nigricans*, *Penicillium chrysogenum*, *P. verrucosum* var. *cyclopium*, *Cladosporium herbarum*. На газоне штаммов этих культур спровоцирован лизис мицелия грибов миковирусом в виде негативных колоний, в сравнении с контролем, ранее открытого нами вируса гриба *Fusarium javanicum* var. *radicicola*.

2. Даны рекомендации для сохранения банка грибов – аллергопродуцентов, содержащих внутриклеточный вирус: а) применение стандартной питательной среды для каждой культуры с концентрацией агара 2,0%; б) поддержание питательной среды с рН 6,0-6,5; в) период хранения штаммов не более 3-х месяцев при +4 °С; г) для подстраховки – использование среды сусло-агар со стандартными условиями (концентрацией агара и рН).

3. Для более глубокого изучения миковируса микромицетов – аллергопродуцентов и патогенов для человека необходимы молекулярно-биологические исследования.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Sande W.W.J., Lo –Ten-Foe J.R., et al., Mycoviruses: future therapeutic agents of invasive fungal infections in humans? // Eur J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. – 2010. – Vol. 29, Is.7. – P.755-763.
2. Xie J., Jiang D., New insights into mycoviruses and exploration for the biological control of crops fungal diseases// Annu Rev.Phytopathol. – 2014. – Vol. 52. – P. 45-68.
3. Lin V., Zhang H., Zhao C., et.al., The complete genome sequence of a novel mycovirus from *Alternaria longipes* strain HN28// Arch. Virol. – 2014. – Sep.24
4. Schoebel C. N., Zoller S., Rigling D. Detection and genetic characterisation of a novel mycovirus in *Hymenoscyphus fraxineus*, the causal agent of ash dieback// Infect. Genet. Evol. – 2014. – Vol.28. – P. 78-86.
5. Jiang V., Zhang T., Luo C., et al. Prevalence and diversity of mycoviruses infecting the plant pathogen *Ustilagoideae virens*// Virus Res. – 2015. – Vol. 195. – P. 47-56.
6. Zhong J., Lei X.H., Zhu J.Z., et.al. Detection and sequence analysis of two novel co – infecting double – strand RNA mycoviruses in *Ustilagoideae virens* // Arch. Virol. – 2014. – Vol. 159, №11. – P. 3063-70.
7. Wang L., Jiang J., Wang Y., et. al. Hypovirulence of the phytopathogenic fungus *Botryosphaeria dothidea*: association with a coinfecting chrysovirus and a partitivirus // J. Virol. – 2014. – Vol. 88, №13. – P. 7517-27.
8. Marvelli R.A., Hobbs H.A., Li S., et al. Identification of novel double – stranded RNA mycoviruses of *Fusarium virguliforme* and evidence of their effects on virulence// Arch. Virol. – 2014. – Vol. 159, №2. – P. 349-52.
9. Bhatti M.F., Jamal A., Bignell E. M., et al. Incidence of ds RNA mycoviruses in a collection of *Aspergillus fumigatus* isolates// Mycopathologia. – 2012. – Vol. 174, №4. – P. 323-26.
10. Refos J.M., Vonk A.G., Eadie K., et al. Double – stranded RNA mycovirus infection of *Aspergillus fumigatus* is not dependent on the genetic make-up of the host // PLoS One. – 2013. – Vol. 8, №10. – P. 773-81.
11. Журавлева Н.П., Елинов Н.П., Васильева Н.В., Босак И.А. Выявление литического фактора у штаммов микромицетов – продуцентов аллергенов// Проблемы медицинской микологии. – 2013. – Т.15, №1. – С. 40-48.
12. Журавлева Н.П., Елинов Н.П., Васильева Н.В., Семенов В.В. и др. Миковирус в клетках патогенного для человека гриба *Fusarium javanicum* var. *radicicola*// Проблемы медицинской микологии. – 2008. – Т.10, №1. – С. 8-15.
13. Журавлева Н.П., Елинов Н.П., Васильева Н.В. и др. Внутриклеточный миковирус. Сборник кратких описаний научных открытий. Диплом №326. – М., 2008. – С. 13-16.
14. Журавлева Н.П., Зуева Е.В. и др. Спонтанная изменчивость некоторых морфобиологических свойств *Rhizopus nigricans* Ehrenb. // Проблемы медицинской микологии. – 2001. – Т. 3, №2. – С. 60-61.
15. Журавлева Н.П., Соловьева Г.И. и др. Спонтанная изменчивость популяций селекционированных штаммов зигомицетов – продуцентов микоаллергенов// Проблемы медицинской микологии. – 2003. – Т.5, №2. – С.73-74.
16. Журавлева Н.П., Васильева Н.В., Соловьева Г.И. Спонтанная изменчивость популяций селекционированных штаммов микромицета *Cladosporium herbarum* (Pers.)Link. – продуцентов аллергенов// Проблемы медицинской микологии. – 2007. – Т. 9, №2. – С. 56-57.
17. Журавлева Н.П., Васильева Н.В., Чилина Г.А. и др. Спонтанная изменчивость популяций штаммов *Penicillium verrucosum* var. *cyclopium* Samsen Stolk et Hadiok – продуцентов аллергенов// Проблемы медицинской микологии. – 2008. – Т. 10, №2. – С. 43-44.
18. Журавлева Н.П., Васильева Н.В. и др. Естественная изменчивость популяций *Penicillium chrysogenum* Weste при многоступенчатой селекции штаммов микоаллергопродуцентов// Проблемы медицинской микологии. – 2012. – Т. 14, №2. – С. 39-42.

Поступила в редакцию журнала 20.03.2015

Рецензент: А.А. Степанова



УДК 616-002.828: 57.086.3

ВЛИЯНИЕ ИЗОКОНАЗОЛА НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ КЛЕТОК КУЛЬТУР *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (SA1) И *STAPHYLOCOCCUS HAEMOLYTICUS* (SH1)

Степанова А.А. (зав. лаб.), Васильева Н.В. (директор института, зав. кафедрой), Босак И.А. (с.н.с.), Котрехова Л.П. (врач-дерматолог)

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

©Коллектив авторов, 2015

Показаны четкие различия в общем ходе ультраструктурных изменений естественного старения клеток двух видов бактерий в контроле и характера преобразований их тонкого строения под влиянием изоконазола. Это позволяет говорить о наличии специфических тонких механизмов деструктивного характера, вызванных данным антимикотиком. Интактные клетки через 3 часа экспозиции в исследуемых взвешях уже отсутствовали.

Ключевые слова: изоконазол, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*, трансмиссионная электронная микроскопия, ультраструктура

THE INFLUENCE OF ISOCONAZOLE ON THE ULTRASTRUCTURE OF CELL CULTURES *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (SA1) AND *STAPHYLOCOCCUS HAEMOLYTICUS* (SH1)

Stepanova A.A. (head of the laboratory), Vasilyeva N.V. (director of the institute, head of the chair), Bosak I.A. (senior scientific collaborator), Kotrekhova L.P. (dermatologist)

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

©Collective of authors, 2015

The clear differences in the general course of ultrastructural changes of the natural-rate of aging cells of the two species of bacteria in the control and character of their thin structure under the influence of isoconazole. This permit say about the presence of specific fine mechanism of a destructive nature, caused by this antimycotic. Intact cells after 3 hours of exposure in the studied sediment already absent.

Key words: isoconazole, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*, transmission electron microscopy, ultrastructure

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время имеет место тенденция возрастания числа больных с бактериально-грибковыми поражениями кожного покрова, в связи с чем являются актуальными детальные исследования влияния антимикотиков не только на грибы, но и на бактерии. Ранее были проведены исследования по выявлению влияния изоконазола (субстанции кремов Травоген, Травокорт) на культуры микромицетов [1], а также определению бактериостатической и бактерицидной концентраций его в отношении *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus haemolyticus* [2]. В ряде работ [Bastide M. et al. // Pathol.

Biol. – 1982. – Vol. 30, №6; Moulin-Traffort J. et al. // Pathol. Biol. – 1986. – Vol. 34, №8 и др.] проводили изучение влияния изоконазола на ультраструктуру клеток культур *Candida albicans*. Представляло интерес выявить ультраструктурные аспекты влияния бактерицидной концентрации изоконазола на клетки культур этих видов бактерий.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Состав исследуемых объектов: образец №1 – изоконазол (субстанция № 80166010).

Тест-культуры микроорганизмов, выделенные от пациентов с бактериально-грибковой инфекцией кожи:

Staphylococcus aureus 1-изолят (SA1)

Staphylococcus haemolyticus 1-изолят (SH1)

Выделение культур микроорганизмов-патогенов осуществляли с кожи больных, страдавших от бактериально-грибковой инфекции и находившихся в микологической клинике НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина на лечении в период с 4.05 по 11.05.2011 г. Культуры бактерий изолировали после посева биоматериала (кожные чешуйки, отделяемое эрозий, пустул) на кровяной агар. Видовую идентификацию *Staphylococcus* spp. проводили по результатам культурального исследования – посевов на кровяной и желточно-солевой агары, микроскопии мазков, окрашенных по Грамму, а также при помощи тест-системы Staph Plus® (BioMerieux).

Культуры бактерий пересеивали в столбики полужидкого питательного агара и сохраняли в холодильнике при +4 °С в течение трех суток. В качестве растворителя для изоконазола использовали неразведенный диметилсульфоксид (ДМСО).

Определение чувствительности проводили методом серийных разведений в жидкой питательной среде согласно методическим указаниям «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» МУК 4.2.1890-04. Титрование выполняли методом последовательных двукратных разведений, начиная с максимальной концентрации 100 мкг/мл до минимальной – 0,195 мкг/мл. Взвеси *Staphylococcus* spp. готовили из суточной культуры, выращенной при 37 °С на мясо-пептонном агаре в пробирках, затем клеточную массу снимали микробиологической петлей с поверхности агара, помещали в стерильную пробирку, постепенно добавляя 0,85% раствор натрия хлорида до густоты рабочих взвесей 1 ЕД по стандарту мутности Мак-Фарланда. Количество вносимой рабочей взвеси в каждую пробирку ряда составляло 0,1 мл ($3 \cdot 10^7$).

В каждом опыте ставили 3 контроля:

№ 1 культуры (1 мл питательной среды + 0,1 мл рабочей взвеси тест-культуры);

№ 2 питательной среды (1 мл среды без культуры и без исследуемого препарата);

№ 3 контроль препарата (0,9 мл питательной среды + 0,1 мл исходного разведения препарата).

Все ряды подготовленных разведений с тест-культурами и контрольные выдерживали при 37 °С в течение суток. Минимальной бактериостатической концентрацией исследуемого препарата считали разведение в последней пробирке, где визуально отсутствовал рост микроорганизма.

Для определения бактерицидного действия исследуемого препарата делали высев штрихами микробиологической петлей на секторы среды мясо-пептонный агар в чашках Петри из каждой пробирки, в которой визуально отсутствовал рост тест-культуры, а также из контрольной пробирки №1. Чашки с посевами ставили в термостат при 37 °С на срок до

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

появления роста колоний в контрольном секторе, после чего учитывали рост культуры во всех секторах.

Взвеси тест-культур в жидкой среде Мюллер-Хинтона концентрацией клеток 2 ЕД по стандарту мутности Мак-Фарланда без изоконазола (контроль) и с его добавлением в бактерицидной концентрации (6,3 мкг/мл – для *S. aureus* и 3,1 мкг/мл – для *S. haemolyticus*) фиксировали через 30 минут, 1, 2 и 3 часа от начала эксперимента для целей трансмиссионной электронной микроскопии в 3% растворе глутарового альдегида, приготовленном на какодилатном буфере (рН 7,2). Затем образцы промывали от фиксатора какодилатным буфером, фиксировали 1 час в 1% растворе осмиевой кислоты, обезживали в серии спиртов (30%, 50%, 70%, 80%, 90% и 100%) и ацетоне с последующей заливкой в смесь эпоксидных смол эпон-аралдит. Полимеризацию блоков проводили 3 суток в термостате при 60°, а затем затачивали на пирамитоме 11800 LKB. Ультратонкие срезы окрашивали 5 минут уранилацетатом и 10 минут – свинцом азотнокислым, а затем исследовали в трансмиссионном электронном микроскопе Jem-100SX (Япония).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты изучения антибактериальной активности изоконазола приведены в таблице 1.

Таблица 1

In vitro активность изоконазола в отношении тест-культур бактерий – изолятов из пат. материала

Тест-культура	Минимальная бактериостатическая и бактерицидная концентрации, мкг/мл	
	бактериостатическая	бактерицидная
<i>Staphylococcus aureus</i> (SA1)	-3,1	6,3
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> (SH1)	1,6	3,1

Ультраструктура интактных клеток *S. aureus* (SA1) и *S. haemolyticus* (SH1) в жидкой среде без добавления изоконазола (контроль). Компонентами ультраструктуры интактных клеток изученных видов бактерий были: нуклеоид (ядерное вещество), цитозоль, плазмалемма и клеточная стенка (Рис. 1 а, 2 а). Для завершивших деление клеток бактерий была характерна поперечная трехслойная (со светлым центральным и темными латеральными слоями) перегородка (Рис. 1 а, 2 а). Нуклеоид довольно плотный, неправильной формы, тонко-фибриллярной структуры, занимал большую и центральную часть клетки. Цитозоль умеренной электронной плотности, богат свободными рибосомами. Плазмалемма трехслойная асимметричная плотно прилегала к однослойной, довольно тонкой, плотной, гомогенной клеточной стенке. Интактные клетки изученных видов бактерий различались между собой по толщине клеточных стенок. Так, у *S. aureus* они были тоньше (в среднем, 0,2 мкм) в сравнении с таковыми *S. haemolyticus* (в среднем, 0,4 мкм), что прямо коррелировало со значениями средних размеров интактных клеток этих видов бактерий (более мелкие у первого вида и более крупные у второго).

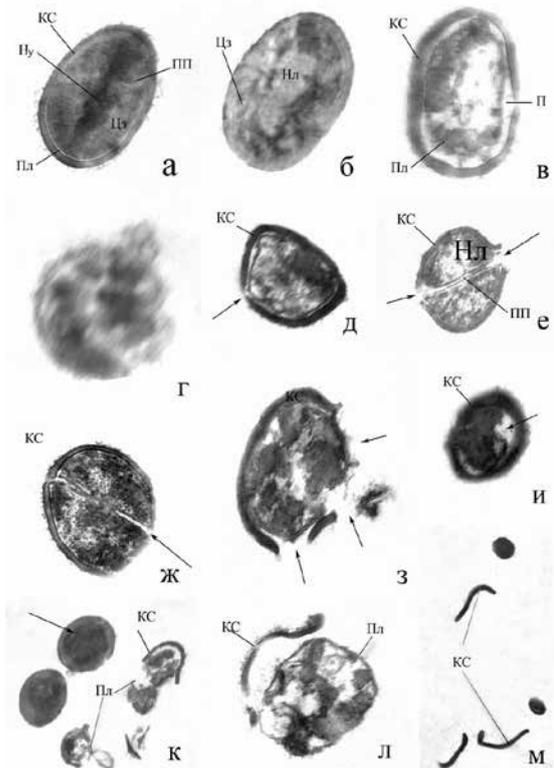


Рис. 1. Особенности ультраструктуры клеток *S. aureus* в жидкой среде Мюллер-Хинтона: а-г – контроль (без добавления изоконазола); эксперимент (д-м) через 30 минут (д-ж), 1 час (з-к) и 2 часа (л, м) после начала эксперимента. ↑ д-з – показывает разрыв в клеточной стенке. Условные обозначения здесь и на рис. 2-5. КС – клеточная стенка; Ну – нуклеоид; П – периплазматическое пространство; Пл – плазмалемма; ПП – поперечная перегородка; Р – рибосома; Цз – цитозоль. Ув.: x 70000

Ультраструктура стареющих клеток *S. aureus* (SA1) в контроле, а также в эксперименте с добавлением бактерицидной концентрации изоконазола. Ультраструктурные аспекты старения клеток бактерий в условиях контроля. Естественное старение клеток бактерий начиналось с неравномерного просветления нуклеоида и цитозоля (Рис. 1 б). Деструктивные изменения клеточной стенки и содержимого бактерий происходили одновременно и заключались в следующем. Клеточная стенка становилась умеренной электронной плотности, равномерно утоньшалась (Рис. 1 в) и, в конечном итоге постепенно лизировала, обнажая разрушающееся содержимое клетки (Рис. 1 г). Плазмалемма приобретала неровный контур и отходила от клеточной стенки (Рис. 1 в), что приводило к формированию светлого и неравномерного по толщине периплазматического пространства. Цитозоль исчезал, в содержимом клетки выявлялись варьирующие по размерам и электронной плотности сгустки неправильной формы и обрывки мембран, как правило, приуроченные к плазмалемме (Рис. 1 в). Позже последняя распадалась на фрагменты и лизировала. На заключительном этапе старения клетки бактерий этого вида имели вид «теней» (Рис. 1 г), в которых можно было различить контур сильно извилистой, рыхлой и слабо контрастной клеточной стенки, а также наблюдать отсутствие плазмалеммы и присутствие в содержимом некогда живой клетки бесформенные скопления разных размеров и формы.

Отметим, что частота встречаемости интактных клеток изученных видов бактерий и находящихся в состоянии естественного старения была сходной во всех изученных вариантах контроля (табл. 2).

Таблица 2

Частота встречаемости (%) интактных, стареющих и разрушающихся под действием изоконазола клеток изученных видов бактерий

контроль 30 минут, 1 час, 2 часа, 3 часа		
50%	50%	
интактные клетки	стареющие клетки	
экспозиция 30 минут		
40%	30%	30%
экспозиция 1 час		
10%	20%	60%
экспозиция 2 часа		
10%	10%	80%
экспозиция 3 часа		
-	-	-
интактные клетки	стареющие клетки	разрушающиеся клетки

Экспозиция 30 минут, 1, 2 и 3 часа от начала эксперимента. Характер деструктивных изменений ультраструктуры клеток бактерий практически при всех экспозициях эксперимента был сходным; с увеличением времени экспозиции отмечали лишь постепенное снижение числа интактных клеток и увеличение частоты встречаемости разрушающихся бактерий (табл. 2). Исключение составлял лишь 3-х часовой срок экспозиции, при котором интактные клетки уже отсутствовали, как и отсутствовали их высевы на питательную среду. В связи с вышесказанным, приведенное ниже описание ультраструктурных изменений бактериальных клеток может быть отнесено ко всем срокам экспозиции.

Первые изменения под влиянием изоконазола происходили в строении клеточной стенки бактерий, которая претерпевала локальные разрывы (Рис. 1 д, стрелка). Формированию разрывов предшествовало локальное снижение электронной плотности клеточной стенки. Замечено, что в бактериях, находящихся на той или иной стадии деления (с формирующимися), или сразу после его завершения (с уже сформированными поперечными перегородками), разрыв клеточной стенки происходил именно в зоне контакта их с поперечными перегородками (Рис. 1 е, ж, стрелки). После разрыва клеточной стенки вблизи поперечных перегородок происходил лизис их среднего светлого слоя (Рис. 1 ж, стрелка), а затем – и темных латеральных ее слоев, что приводило к значительному оголению протопласта молодых клеток бактерий и дальнейшему развитию деструктивных процессов в них. В бактериях, лишенных поперечных перегородок, разрывы клеточной стенки могли быть одиночными (Рис. 1 д) либо множественными (Рис. 1 з, стрелки). Наблюдали картины уплотнения цитозоля (Рис. 1 и, 1 к, стрелка) разного объема, происходящие параллельно с формированием светлых локальных расширений периплазматического пространства (Рис. 1 и, стрелка), а также асимметричного «разрыхления» верхнего слоя клеточной стенки (Рис. 1 и).

Описанные деструктивные изменения в строении клеточной стенки бактерий усиливали влияние изоконазола на содержимое клетки. При этом заметно снижалась электронная плотность нуклеоида (Рис. 1 е, ж). В цитозоле клеток формировались локальные просветления (Рис. 1 ж). Со временем цитозоль полностью исчезал, и в содержимом клетки можно было наблюдать сгустки разной электронной плотности и конфигурации, часто приуроченные к плазмалемме (Рис. 1 л), которая приобретала сильно извилистые очертания и разрывалась, что приводило к выходу содержимого клетки наружу (Рис. 1 к). Вблизи разрушающихся и разрушенных клеток бактерий часто отмечали обрывки темных клеточных стенок разной протяженности (Рис. 1 м).

Ультраструктура стареющих клеток *S. haemolyticus* (SH1) в контроле, а также в эксперименте с добавлением бактерицидной концентрации изоконазола. Ультраструктурные аспекты старения клеток бактерий в условиях контроля. Процессы естественного старения клеток бактерий в условиях контроля протекали аналогично описанным для *S. aureus*. Вначале наблюдали просветление нуклеоида (Рис. 2 б, стрелка) и одновременно – постепенное довольно равномерное утоньшение клеточной стенки по всему периметру клетки (Рис. 2 в, стрелка).

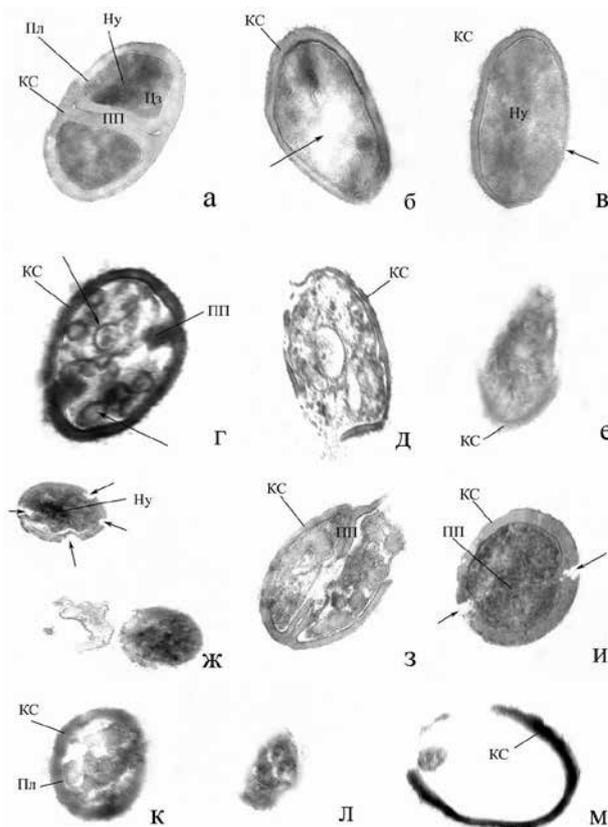


Рис. 2. Особенности ультраструктуры клеток *S. haemolyticus* в жидкой среде Мюллер-Хинтона: а-е – контроль (без добавления изоконазола); ж-м – эксперимент через 30 минут (ж), 1 час (з, и) и 2 часа (к-м) после начала эксперимента, ↑ б – нуклеоид; ↑ в – утоньшение клеточной стенки; ↑ г – фрагменты плазмалеммы; ↑ ж (клетка сверху и слева), и – разрывы в клеточной стенке; ↑ ж (клетка слева и снизу) – уплотнение цитозоля; ↑ з – просветление цитозоля. Ув.: x 70000

Цитозоль полностью исчезал (Рис. 2 г, д), плазмалемма распалась на фрагменты, которые формировали везикулярные элементы разнообразной морфологии (Рис. 2 г, стрелки). Со временем последние также полностью лизировали. В некоторых клетках распад плазмалеммы совпадал с локальным лизисом клеточной стенки, которая в этот момент отличалась низкой электронной плотностью, неравномерной толщиной и неровным контуром (Рис. 2 д). После практически полного разрушения клеточной стенки от некогда живой клетки оставались только бесформенные и аморфные остатки (Рис. 2 е).

Экспозиция 30 минут, 1, 2 и 3 часа от начала эксперимента. Последовательность, характер ультраструктурных изменений и временные рамки проявления деструктивных процессов (табл. 2) были аналогичны с ранее выявленными для клеток бактерий *S. aureus*.

В клеточной стенке бактерий формировались одиночные (Рис. 2 з) или множественные (Рис. 2 ж) локальные разрывы

вы. В делящихся и только что завершивших деление клетках бактерий, снабженных поперечными перегородками, разрыв клеточной стенки так же, как и *S. aureus*, происходил в зоне контакта их с латеральными клеточными стенками (Рис. 2 и, стрелки). Затем отмечали лизис среднего слоя последней, а позже и темных ее слоев (Рис. 2 з), что давало возможность изоконазолу вступать в контакт непосредственно с плазмалеммой. Часто отмечали картины уплотнения цитозоля бактерий (Рис. 2 ж, стрелка) разного объема и асимметричного «разрыхления» верхнего слоя клеточной стенки (Рис. 2 ж, клетка внизу и справа электроннограммы).

Нуклеоид просветлялся (Рис. 2 и), в цитозоле клетки также формировались локальные просветления (Рис. 2 з, стрелки) и сгустки разной электронной плотности и формы, обычно приуроченные к плазмалемме. Со временем цитозоль полностью исчезал (Рис. 2), однако в содержимом клетки долго сохранялись вышеописанные включения. Плазмалемма клетки становилась сильно извилистой, при этом она сохраняла трехслойное строение; со временем она сильно утоньшалась – до полного лизиса, что приводило к выходу из нее содержимого клетки. Довольно часто на срезах отмечали обрывки клеточных стенок (Рис. 2 м) и бесформенные аморфные «тени» от некогда живых клеток.

В проведенных исследованиях показано, что характер ультраструктурных изменений в клетках изученных двух видов бактерий при естественном старении (контроль) и под влиянием бактерицидной концентрации изоконазола был разным: при естественном старении клеток двух видов бактерий (жидкая среда без изоконазола, контроль) изменения в тонком строении клеточных стенок, нуклеоида и цитозоля происходили одновременно; плазмалемма исчезала из клеток последней. Общий ход естественного процесса старения схематически можно представить следующим образом (Рис. 3 а-е).

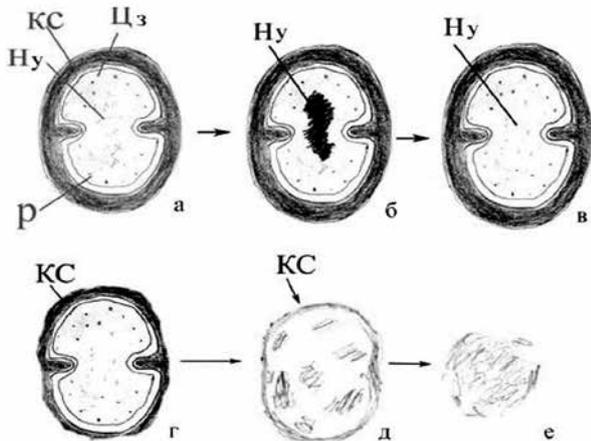


Рис. 3. Схема, иллюстрирующая ультраструктуру стареющих клеток *S. aureus* и *S. haemolyticus* (контроль)

В результате проведенных исследований установлено, что характер ультраструктурных изменений при бактерицидной концентрации изоконазола был идентичен в разные сроки инкубации (за исключением 3-х часов) и протекал по одному сценарию в клетках двух видов бактерий. Как видно из приведенных данных, изоконазол уже через 30 минут от начала эксперимента вызывал одиночные или множественные разрывы клеточной стенки у клеток двух изученных видов бактерий, что оголяло плазмалемму и давало толчок к дальнейшему развитию деструктивных процессов. Разрыву клеточной стенки предшествовало ее локальное просветление, связанное с лизисом структурных компонентов клеточной стенки (микрофибрилл). Возникшие в итоге различия в плот-

ности клеточной стенки и были причиной ее механического разрыва в данных зонах. Отметим, что фунгицидные концентрации изоконазола были причиной разрыва клеточной стенки и клеток культур *Candida albicans* [Bastide M. et al. // Pathol. Biol. – 1982. – Vol. 30, №6; Moulin-Traffort J., et al. // Pathol. Biol. – 1986. – Vol. 34, №8]. Общеизвестно, что ригидная клеточная стенка бактерий является не только механическим каркасом клетки, придающим ей определенные размеры и форму, но и структурой, предохраняющей ее от неблагоприятных внешних воздействий. Она также участвует в обмене веществ клетки с окружающей средой. Возникшая в итоге доступность плазмалеммы для изоконазола приводила к серии деструктивных процессов, в первую очередь, затрагивающих нуклеоид клетки (просветление до полного лизиса), что нарушало общий ход жизнедеятельности бактериальной клетки и сопровождалось лизисом цитозоля, а, следовательно, и свободных рибосом. Далее происходило образование бесформенных сгустков, разрушение плазмалеммы, что приводило к гибели клеток. Часто выявляемые картины разрушения клеточной стенки вблизи формирующихся или сформированных поперечных септ в клетках бактерий уже через 30 минут от начала эксперимента являются показателями того, что изоконазол, прежде всего, ингибировал рост и развитие делящихся и молодых клеток, тем самым нанося «удар по будущему популяции бактерий». Объяснение тому, почему основной удар изоконазола приходится именно в эти зоны следующее: общеизвестно, что в ходе деления бактериальной клетки (Рис. 4) происходит образование не только поперечных септ, но и клеточной стенки. Таким образом, в образовавшихся сразу после завершения этого процесса молодых клетках 50% стенок (включая поперечные септы) будут еще некоторое время «ювенильными», а, следовательно, и более уязвимыми для изоконазола.

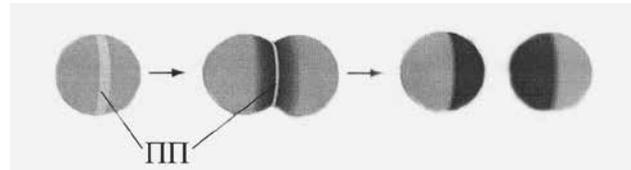


Рис. 4. Схема, иллюстрирующая локализацию поперечной перегородки и вновь образованной части клеточной стенки (показана черным) в ходе деления бактериальной клетки

Схематически деструктивные изменения в ультраструктуре клеток двух изученных видов бактерий под влиянием изоконазола можно представить следующим образом (Рис. 5).

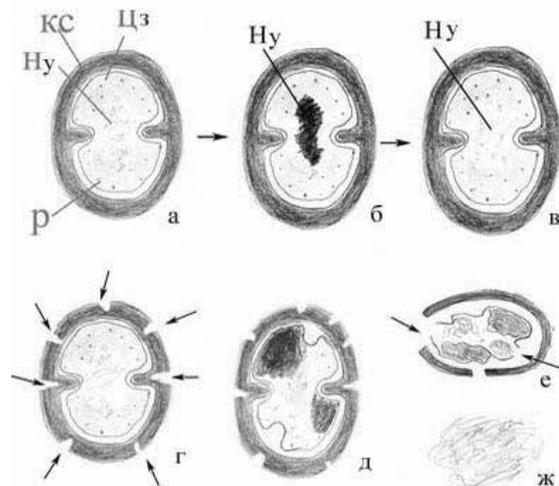


Рис. 5. Схема, иллюстрирующая влияние изоконазола на ультраструктуру клеток бактерий *S. aureus* и *S. haemolyticus*. КС –

клеточная стенка; Ну – нуклеоид; Р – рибосома; Ц – цитозоль. ↑
г – разрывы в клеточной стенке; ↑ е – разрывы в плазмалемме.

Сравнительным анализом общего хода ультраструктурных изменений естественного старения клеток двух видов бактерий в контроле и характера преобразований их тонкого строения под влиянием изоконазола показаны четкие различия между ними, что позволяет говорить о наличии специфических тонких механизмов деструктивного характера, вызванных данным антимикотиком; уже через 3 часа экспозиции в исследуемых взвешях интактные клетки отсутствовали.

ВЫВОДЫ

1. Выявлено, что характер ультраструктурных изменений в клетках изученных двух видов бактерий при естественном старении (контроль) и под влиянием бактерицидной концентрации антимикотика изоконазола был разным.

2. Показано, что при естественном старении клеток двух видов бактерий (жидкая среда без изоконазола, контроль) изменения в тонком строении клеточных стенок, нуклеоида и цитозоля происходили одновременно; плазмалемма исчезала из клеток последней.

3. В образцах уже через 30 минут экспозиции в присутствии изоконазола 30% из общего числа изученных клеток имели ультраструктуру, не типичную для стареющих клеток.

4. Общий ход деструктивных изменений в тонком строении клеток двух видов бактерий под действием бактерицидной концентрации изоконазола имел следующую направленность:

клеточная стенка → нуклеоид → цитозоль → плазмалемма

5. Установлено, что, независимо от видовой принадлежности бактерий, в экспериментах с применением бактерицидной концентрации изоконазола первые ультраструктурные изменения обнаружили в строении клеточной стенки: в ней появлялись одиночные или множественные разрывы. Образование разрывов вблизи формирующихся (клетки в период деления) и сформированных септ (клетки, недавно завершившие рост) наносило «удар по будущему бактериальной популяции».

БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы выражают благодарность фирме «Bayer HealthCare», оказавшей финансовую поддержку в ходе проведения данного исследования.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Васильева Н.В., Разнатовский К.И., Котрехова Л.П., Михайлова М.А. Мониторирование чувствительности клинически значимых микромицетов к изоконазолу (субстанции кремов Травоген, Травокорт), оценка его эффективности и безопасности в лечении больных микозами кожи // Проблемы медицинской микологии. – 2007. – №2. – С. 19-21.
2. Босак И.А., Котрехова Л.П. Действие изоконазола в отношении избранных бактерий // Проблемы медицинской микологии. – 2010. – Т. 12, №4. – С. 49-51.

Поступила в редакцию журнала 13.02.2015

Рецензент: С.М. Игнатьева



РОССИЙСКО-КИТАЙСКАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ ПО МЕДИЦИНСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И КЛИНИЧЕСКОЙ МИКОЛОГИИ (XVIII КАШКИНСКИЕ ЧТЕНИЯ)

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

RUSSIAN-CHINESE SCIENTIFIC-PRACTICAL CONFERENCE ON MEDICAL MICROBIOLOGY AND CLINICAL MYCOLOGY (XVIII KASHKIN READING)

ABSTRACTS

MEMORY IL-22-PRODUCING CD4⁺ T CELLS SPECIFIC FOR *CANDIDA ALBICANS* ARE PRESENT IN HUMANS

Changyou Wu

Institute of Immunology, Zhongshan School of Medicine, Key Laboratory of Tropical Disease Control Research of Ministry of Education, Sun Yat-sen University, Guangzhou, China

Co-expression of IL-22 and IL-17 has been identified and demonstrated to be involved in the immunopathogenesis of some autoimmune diseases as well as the defense against pathogenic infections in animal studies. However, the properties of IL-22-producing cells in humans remain largely unclear. In the present study, we showed that IL-22 could be induced from human PBMC following various polyclonal stimulations. The majority of IL-22-producing cells in PBMC were CD4⁺ T cells with a memory cell phenotype. In addition, we found that a subset of IL-22⁺ T cells produced IL-22 alone, whereas other IL-22⁺ T cells co-expressed cytokines typical of Th1, Th2 and Th17 cells. Importantly, stimulation of PBMC from healthy adults with heat-inactivated *Candida albicans* yeast or hyphae resulted in IL-22 production by central and effector memory CD4⁺ T cells. Moreover, CD4⁺CCR6⁺ but not CD4⁺CCR6⁻ T cells produced IL-22 when stimulated with either *C. albicans* or PMA and ionomycin. In addition, PBMC from the individuals infected with *C. albicans* produced a significantly higher amount of IL-22 compared with healthy controls following stimulation with *C. albicans*. These data demonstrate that IL-22-producing T cells in humans may play an important role in the defense against fungal infections such as *C. albicans*.

PRIMARY DRUG RESISTANCE AND THE GENOTYPE DISTRIBUTION OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* IN HEILONGJIANG PROVINCE, CHINA

Di Li¹, Xin-Ling Pan¹, Jia-Yi Cui¹, Jing-Li Wang¹, Gao-Xiang Sun¹, Chun-Lei Zhang², Bin-Ying Ji², Chie Nakajima³, Chang-Xia Shao¹, Cai-Bo Dong¹, Liu-Zhuo Zhang⁴, Toshio Hattori⁵, Min Zhuang¹, Hong Ling^{1*}

¹Harbin Medical University, China-Russian Institute for Infection and Immunity, Heilongjiang Provincial Key Laboratory for Infection and Immunity, Heilongjiang Key Laboratory for Pathogen Biology, Harbin, China; ²Harbin Chest Hospital, Harbin, China; ³Division of Global Epidemiology, Hokkaido University Research Center for Zoonosis Control, Sapporo, Hokkaido, Japan; ⁴Shen Zhen Protection and Treatment Center for Occupational Diseases, Shenzhen, China; ⁵Tohoku University, Sendai, Japan

China is a country with a high burden of tuberculosis (TB). Heilongjiang Province, located in north-eastern China, is one of the regions where the prevalence of both TB and drug-resistant TB is higher than the average level in China. Elucidating the locally significant risk factors for the high prevalence of TB is important to control the spread of TB and drug resistant TB in this area and other regions of China. We analyzed the resistance trends of *M. tuberculosis* clinical isolates to first-line drugs and fluoroquinolones and the risk factors in Heilongjiang Province. To clarify the distribution of *Mycobacterium tuberculosis* genotypes and Beijing sublineages, we conducted genotyping using mycobacterial interspersed repetitive units (MIRUs)-variable number tandem repeat (VNTR) method and single nucleotide polymorphisms (SNPs) analysis. We found that there was high prevalence of global primary-resistance, multi-drug resistance (MDR), and primary pan-resistance of TB. MDR *M. tuberculosis* isolates showed variable resistance to fluoroquinolones. In this area, 90% of *M. tuberculosis* isolates were Beijing genotype. Modern Beijing sublineages including ST10 and ST22 were the dominant sublineages. We analyzed

the risk factors associated with the high prevalence. The infection with the Beijing genotype was one of the high-risk factors for the development of MDR-TB but the clustering rate was not high among the *M. tuberculosis* isolates suggesting that active transmission was not associated with the high prevalence of drug resistant TB.

ANTI-TUMOR EFFECTS OF THE HUMAN MONOCLONAL ANTI-NUCLEAR ANTIBODY ON THE HEP-2 CELLS

Fengmin Zhang, Hongxi Gu, Dianjun Li

Department of microbiology, Harbin medical University; Key Lab for infection and immunity of Heilongjiang Province, Key Lab for pathogenic biology of Heilongjiang Province education bureau, Harbin 150081, P.R. China

Function of autoantibodies from patients with autoimmune diseases in malignancies development is not clear yet. It has been reported that a cell-penetrating lupus autoantibody, 3E10, which was isolated from a mouse model of systemic lupus erythematosus (SLE), has been a potential targeted therapy for DNA-repair deficient malignancies. We have got four human monoclonal antinuclear antibodies from patients with autoimmune disease, 3B5, 3C1, 3E8 and 4F3. Our data showed that four antibodies could combine HEP-2 cells and display different nuclear types as antinuclear antibody (ANA). Also, these four ANAs can inhibit HEP-2 cells proliferation. We think these antibodies may be potential antibody drugs to cancer therapy. However, the function and mechanism are not clear. Further study, we want to clarify the effects of four ANAs on proliferation of various cancers cells and to investigate the mechanism of four ANAs affecting various cancers cells proliferation and their targets. This may be a new mechanism of malignancies development in patients with autoimmune diseases, and provide novel angle of autoantibody function study.

THE ROLE OF MOLONEY LEUKEMIA VIRUS 10 IN HEPATITIS B VIRUS EXPRESSION IN HEPATOMA CELLS

Hongxi Gu, Yanxiu Ma, Yong Fang

Harbin Medical University of China

Recent studies have shown that the Moloney leukemia virus 10 (Mov10), a putative RNA helicase, has very broad and potent antiretroviral activities. Hepatitis B virus (HBV) has a reverse transcription process, but the potential role of Mov10 in HBV replication remains unknown. In this study, Mov10 was demonstrated to affect HBV expression in HepG2 and HepG2.2.15 cell lines. The data showed that the over-expression of exogenous Mov10 resulted in an increase of the HBsAg and HBeAg levels in the culture supernatant and HBV mRNA level in transfected cells at a low dose and resulted in a decrease at a high dose, but HBV DNA in culture supernatant was not affected. The knockdown of endogenous Mov10 expression through siRNA treatment could suppress levels of HBsAg, HBeAg and HBV mRNA, but had no effect on HBV DNA. Above results indicate that an appropriate level of exogenous Mov10 is responsible for HBV replication, that any perturbation in the level of Mov10 could affect HBV replication, while the endogenous Mov10 could promote HBV replication in vitro. The precise mechanisms that underlie the action of Mov10 on HBV still need further investigation.

EVALUATION OF THE CONTRIBUTION OF *BLA* GENES IN B-LACTAM-RESISTANT CLINICAL *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* AND *ESCHERICHIA COLI* STRAINS BASED ON A NEWLY DEVELOPED MULTIPLEX PCR SYSTEM

James O. Ogutu^{1,2,4}, Qingmeng Zhang², Ying Huang², Wenli Zhang², Jizi Zhao², Wenhui Cai², Wenjing Li², Yang Chen⁵, Wuqi Song², Xiaobei Chen¹, Yingmei Fu^{1,2,3}, Fengmin Zhang^{1,2,3}

¹Wu Lien-Teh Institute, Harbin Medical University, Harbin, China;

²Department of Microbiology, Harbin Medical University, Harbin, China;

³Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Infection and Immunity, Harbin Medical University, Harbin, China; ⁴Department of Pathology, School of Medicine, Kenyatta University, Nairobi, Kenya; ⁵Department of Biotechnology, Dalian Medical University, Dalian, Liaoning, China

Production of β -lactamases by *Enterobacteriaceae* is a major cause of their resistance to β -lactam antibiotics worldwide.

Objectives. To develop a new M-PCR system for the detection of *bla*_{SHV}, *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M-1}, *bla*_{CTX-M-9}, and *bla*_{OXA-1} group genes and apply in their detection, and to evaluate the contribution of the *bla* genes in β -lactam-lactam-resistant clinical *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains.

Methods. Group-specific PCR primers for the β -lactamase (*bla*) genes were optimized into a multiplex system. Specificity and sensitivity of the system were evaluated using 58 reference strains and it was applied in 203 clinical *Enterobacteriaceae* strains to detect the genes. PCR amplicons were sequenced to confirm the specificity of the system. The contribution of the *bla* genes in β -lactam resistant strains was then evaluated using statistical methods.

Results. The system exhibited 100% specificity and sensitivity. Prevalence of *bla* group genes was higher than 80% in both *K. pneumoniae* and *E. coli* clinical strains. Several β -lactamase subtypes: *bla*_{SHV-1}, *bla*_{SHV-33}, *bla*_{TEM-1}, *bla*_{TEM-135}, *bla*_{OXA-1}, *bla*_{CTX-M-3}, *bla*_{CTX-M-9}, *bla*_{CTX-M-14}, *bla*_{CTX-M-15}, *bla*_{CTX-M-27}, *bla*_{CTX-M-55}, *bla*_{CTX-M-65} and *bla*_{CTX-M-104} were detected. *bla*_{CTX-M-1} and *bla*_{TEM} group genes positively correlated with resistance to 3 or more β -lactam agents making it a valuable tool in the assessment of determinant *bla* genes for diagnosis, infection control and epidemiological purposes.

Conclusion. The M-PCR system had the advantage of simultaneously detecting all the targeted *bla* group genes efficiently. More than 80% clinical strains in this study had ≥ 1 *bla* genes pointing to a potential antibiotic resistance problem in this region. Utility in M-PCR kits and statistical evaluation would enhance early screening and evaluations in clinical settings long before results of traditional methods could be ready.

EFFECT OF METHOTREXATE ON THE COMMONLY USED ANTIFUNGALS AGAINST *ASPERGILLUS*, *CANDIDA* AND *MUCOR* SPECIES

Jianxun Yang¹, Pei Yu¹, Zhe Wan², Ruoyu Li², Fengmin Zhang³

¹ The 2nd affiliated hospital of Harbin medical university, ² The 1st hospital of Peking University, ³ Microbiology department of Harbin medical university, China

Objective. To study the effect of methotrexate on the commonly used antifungals against *Aspergillus*, *Candida* and *Mucor* species *in vitro*.

Method. A total of clinical isolates of twenty-three *Aspergillus*, twenty-seven *Candida* and ten *Mucor* species were studied. Microdilution checkerboard technique was performed to evaluate the interaction of methotrexate with amphotericin B, fluconazol, itraconazole, voriconazole, and terbinafine. Disk diffusion assay and microscopic morphological changes were also investigated.

Results. The highest rate of synergy was obtained for the combination of terbinafine and methotrexate which exhibited synergy against 60.9% (14/23) of *Aspergillus* strains. No interactions were detected for the combinations of methotrexate plus itraconazole or amphotericin B against 95.7% (22/23) or 100% of strains respectively. Although voriconazole exhibited indifferent against 87% (20/23) of *Aspergillus* strains when combined with methotrexate, antagonism effect was found against 13% (3/23) of *Aspergillus* strains. For *Candida albicans*, the rate of synergy for the combination of MTX and FLC, ITC and VRZ are 91.3% (21/23), 65.2% (15/23) and 87%(20/23) separately. No antagonism was found against all the strains between methotrexate and azole antifungals. Most of the *Mucor* strains show indifferent when treated with antifungals and methotrexate.

Conclusion. 1).The combination of methotrexate with terbinafine

exhibits higher rate of synergy against *Aspergillus* species. The combination of methotrexate with itraconazole or amphotericin B exhibits no interactions against most strains of *Aspergillus* species. The combination of methotrexate with voriconazole exhibits antagonism against some strains of *Aspergillus* species. 2). The combination of methotrexate with zoles exhibits high rate of synergy against *Candida albicans*. 3). Most of the *Mucor* strains show indifferent when treated with antifungals and methotrexate.

CHARACTERIZATION OF ENVELOPE GLYCOPROTEINS FROM HIV-1 INFECTED BROAD NEUTRALIZERS AND THE IMMUNOGENICITY OF ENVELOPE GLYCOPROTEINS

Jia-Ye Wang, Yan Li, Min Zhuang, Hao-Tong Yu, Dan Tian, Cai-Xia Guo, Ming-Xia Wang, Li Yuan, Song Liu, Cai-Yun Ren, Feng-Min Zhang, Hong Ling

Harbin Medical University, China-Russian Institute for Infection and Immunity, Heilongjiang Provincial Key Laboratory for Infection and Immunity, Heilongjiang Key Laboratory for Pathogen Biology, Harbin, China

The vast genetic diversity of globally circulating strains of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) is a key obstacle for the development of an effective protective vaccine against acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) pandemic. Since the envelope glycoprotein (Env) of HIV-1 is the primary target of humoral responses in HIV-1-infected individuals, its highly variable sequences from different geographical regions in the world causes a top challenge for generating Env-based immunogens. We have been focusing on clarifying the immunogenicity of Envs from locally circulated HIV-1 isolates to find immunogen (s). Recently, we elucidated the profile of neutralizing antibody (NAbs) responses in Chinese HIV-1 infected individuals. We also focused on the specificities of Envs from broad neutralizers. Then, immunization of mice with wild type viral or modified Envs was performed. The humoral immune responses, the T follicular helper cell (Tfh) responses and the memory T and B cell differentiation were investigated. We found the neutralization profile of HIV-1 infected individuals in China and the characteristics of the Envs from the Chinese broad neutralizers. Trimeric Env immunogens from broad neutralizers who were infected with HIV-1 were codon-optimized, constructed, and modified. Immunization with gp120 and gp140 trimers from a broad neutralizer, stabilized by a motif MTQ, can induce high titer of cross-reactive binding antibody and low potency of neutralizing antibody response in mice in the context of appropriate immunization strategy. The modification of Env could induce higher level of specific binding and neutralizing Ab production that may be associated with the reduction of non-specific Tfh but strengthening of the memory Tfh. (Grants: Key Projects in the National Science & Technology Pillar Program 2012ZX10001009-002-003, the National Natural Science Foundation of China, 81271824, 81202364).

GENERATION OF HUMAN MONOCLONAL ANTIBODY FROM HUMAN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES

JIN Aishun

Department of Immunology, College of Basic Medical Sciences, Harbin Medical University, China

Background. A monoclonal antibody (mAb) has been widely used in clinical application as therapeutic antibody drug. At present, therapeutic antibody drug derive mainly from chimeric antibody and humanized antibody. Because of limitation of generation of full human antibody, development of antibody drug is delayed. Previously we developed a rapid and efficient method for generating human mAb from human peripheral blood lymphocytes. Using the method, we generated many human mAbs, including mAbs to HBsAg, mAbs to influenza virus, and mAbs to tumor necrosis factor related apoptosis inducing 1 receptor (TRAIL-R1 Ab).

Objective. Our aims are to establish high efficient expression system for producing antibody protein and analyze their functional characterizations.

Methods. Using high efficient expression protein system in EXPi293T cells, we produced mAb protein with high concentrations. We measured specificity and activity of these mAbs by ELISA. We evaluated antiviral effects and antitumor effects of these mAbs *in vitro*.

Result. We established mAb protein expression system in EXPi293T cells for producing high concentration. We obtained more than 30 stain

mAbs to HBsAg and 20 strain mAbs to influenza V and 10 strain mAbs to TRAIL-R1. They have high specificity and activity to their relevant antigen. We found that some mAbs to HBsAg and to influenza V have antiviral effects, and mAbs to TRAIL-R1 can enhance TRAIL-mediated apoptosis in some tumor cells in vitro.

Conclusion. Using our developed method, we generated various mAbs with high specificity and neutralizing activity. Our researches can provide the basis platform for development of therapeutic antibody drug.

MULTI-LOCUS SEQUENCE TYPE (MLST) CONTRIBUTES TO DETERMINE THE LEVEL OF VIRULENCE OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* ISOLATED FROM COMMUNITY ACQUIRED INFECTION CASES

Jizi Zhao^{1,2,3}, Jie Chen², Wenli Zhang^{1,2,3}, Xiaobei Chen⁴, Yingmei Fu^{1,2,3} and Fengmin Zhang^{1,2,3}

¹ Wu Lien-Teh Institute, ²Department of Microbiology, ³Heilongjiang Provincial Key Laboratory for Infection and Immunity, ⁴College of Public Health, Harbin Medical University Harbin China.

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (NSFC). The grant numbers are 81373145 and 81101300.

Background. Infections caused by hyper-virulent *Klebsiella pneumoniae* is reported as emerging disease in many countries worldwide. One of the most important characterization of those strains indicated hypermucoviscosity phenotype. Whether all hypermucoviscosity strains were related to highly pathogenic is unclear.

Methods. In our study we applied the multilocus sequence typing (MLST) technology to 65 *Klebsiella pneumoniae* strains originating from different specimens to examine the degree of the genetic diversity, including virulence profiles and mice lethality.

Results. The prevalence of hypermucoviscosity phenotype was account for 24.62% (16/65) in Harbin, China. ST65 (7), ST86 (3), ST375 (1) ST23 (4) and ST412 (1) were found in hypermucoviscosity strains. Than other ST type (ST35, ST36, ST1107 and ST309) were only found in non hypermucoviscosity strains. hypermucoviscosity strains exhibited varying LD₅₀ values (LD₅₀ values: 4.06×10¹-3.48×10⁹cfu/mouse). Distinctly, different ST type showed similar virulence profiles, exactly, The ST23, ST86 and ST375 isolates displayed significantly lower LD₅₀ values (4.06×10¹-4.21×10⁴ cfu/mouse) and ST65 isolates exhibited varying LD₅₀ values on mice (3.22×10² - 3.48×10⁹ cfu/mouse). The order of mean LD₅₀ values of ST types was ST23 < ST86 < ST65 < other ST types (ST412, ST35, ST36, ST309 and ST1107).

Conclusion. Our study speculated that MLST type may serve, in part, as markers that are better able to predict the risk of *Klebsiella pneumoniae* infectious disease.

HUMAN GUT MICROECOLOGY AND INFECTIOUS DISEASE

Lanjuan Li

State Key Laboratory for Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases; The collaborative innovation center for diagnosis and treatment of infectious diseases; The First Affiliate Hospital, Zhejiang University, Hangzhou, China

Infectious diseases are caused by pathogens such as viruses and bacteria. About 25% of annual deaths worldwide are estimated to be related directly to infectious diseases. In the process of the infectious diseases, there will be damage of immune, metabolic system and mucosal barrier, leading to the microbiota dysbiosis in oral, intestinal and urinary. On the other hand, microbiota dysbiosis will lead to the changes of microbiota structure, metabolism function changes and bacterial translocation.

Liver disease is one kind of infectious diseases. Here we have done some work on the role and the mechanism of intestinal microbiota in the development of liver diseases. We apply quantitative metagenomics to contrast gut microbiota from patients with liver diseases such as liver cirrhosis, acute-on-chronic liver failure, liver transplant and hepatitis. Based on these metagenomics data, we characterize the gut microbiome in liver disease by constructing gene catalogue of gut microbes, analysis changes of phylogenetic profiles and differences of microbial functions. Intestinal microbiota is closely related to the development of liver disease.

THE NUCLEOCAPSID PROTEIN OF CORONAVIRUSES ACTS AS VIRAL SUPPRESSOR OF RNA SILENCING IN MAMMALIAN CELLS

Lei Cui, Haiying Wang, Yanxi Ji, Xingyu Huang, Zidao Wang, Shan Xu, Yu Chen, Deyin Guo

State Key Laboratory of Virology and Modern Virology Research Center, College of Life Sciences & School of Basic Medical Sciences, Wuhan University, P. R. China

RNA interference (RNAi) is a eukaryotic posttranscriptional gene silencing that functions in antiviral immunity in plants, nematodes, and insects *et. al.* However, recent studies provided strong supports that RNAi also plays a role in antiviral mechanism in mammalian cells. To combat antiviral RNAi responses, many viruses encode viral suppressors of RNA silencing (VSR) to facilitate their replication. VSRS have been well studied for plant and insect viruses but are not well defined for mammalian viruses currently. Here, we identified a VSR from medically important mammalian viruses, coronaviruses, including *Severe acute respiratory syndrome coronavirus* (SARS-CoV) and showed that the nucleocapsid protein (N protein) of coronaviruses suppresses RNAi triggered by either short hairpin RNAs (shRNAs) or small interfering RNAs (siRNAs) in mammalian cells. The MHV replication increased when the N proteins were expressed *in trans* in mammalian cells and knockdown of Dicer or AGO2 transcripts facilitated the MHV replication in neuro-2a cells. These results support the hypothesis that RNAi pathway is part of the innate antiviral response in mammalian cell.

ALTERED CIRCULATING MICRO RNA EXPRESSION IN MICE INFECTED WITH COXSACKIEVIRUS B3

Lei Tong¹, Chaoyu Sun², Hui Wang¹, Zhiwei Guo¹, Yan Wang¹, Lexun Lin¹, Xueqi Li^{2*}, Zhaohua Zhong¹

¹ Department of Microbiology, Harbin Medical University, 157 Baojian Road, Harbin, China ² The Fourth Affiliated Hospital, Harbin medical university, Harbin, China

This work was supported by the Natural Science Foundation of China (81101234), and Heilongjiang Postdoctoral Grant (LBH-Z11076).

Background Coxsackievirus B3 (CVB3) is a common causative agent in the development of inflammatory cardiomyopathy. However, whether blood microRNAs (miRNAs) are changed in this process remains unknown. Here, we investigated miRNA expression changes in CVB3 infected mouse blood.

Methods: miRNA expression in CVB3 infected mice was detected by miRNA microarray analysis. Real-time polymerase chain reaction (PCR) was used to validate differentially expressed miRNAs. Then, the targets of differentially expressed miRNAs were predicted. Using these predicted targets, gene ontology (GO) classifications and Kyoto Encyclopedia Genes and Genomes (KEGG) enrichment were used to analyze the miRNA functions.

Results. The miRNA microarray revealed 96 and 89 differentially expressed miRNAs in the whole blood of mice infected with CVB3 for 3 or 6 days, respectively. The real-time PCR results were consistent with the miRNA microarray analysis results. Target gene-related GO and KEGG predicted the functions of the differentially expressed miRNAs. The related pathways involved hypertrophic cardiomyopathy, dilated cardiomyopathy and arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.

Conclusions. MiRNAs were differentially expressed in the blood of mice infected with CVB3. The expression level varied with infection times. These results may provide important insights into the mechanisms responsible for the progression of CVB3 infection.

NF-KB SIGNALING IN PATHOGENESIS OF VIRAL INFECTION

Mengfeng Li

Sun Yat-Sen University, China

NF-κB has been recognized as one of the most pleiotropic transcription factors and a key player in the regulation of antiviral inflammatory response and immunity, and yet of other pathologic processes central to development/progression of severe viral infection as well. A large body of evidence suggests that the uncontrolled chronic inflammation or cytokine storm following certain viral infection, characterized by deregulated activation of a set of inflammatory factors, particularly those under the regulation of the NF-κB signaling and those capable of stimulating NF-κB acti-

vation, may act as a key player in the scenario of viral pathogenesis. Biological and clinical lines of evidence have established that constitutively activated of NF- κ B signaling frequently found in viral infection, mediates important biological features of host cells by transcriptionally activating various target genes, and multiple kinase-mediated pathways have been found to trigger NF- κ B activation. Research in our laboratory has been prompted to investigate that regulation and mode of action of the NF- κ B signaling in various settings of viral infection. Herein, using dengue virus as a model, we discuss our novel findings in genetic as well as epigenetic regulation of the NF κ B-I κ B negative feedback loop, which we believe will better our understanding of how NF- κ B signaling is specifically activated by different pathogenic stimuli and how it activates different downstream transcriptions in response to these stimuli at certain levels of specificity and efficiency. We hope that such information will provide new molecular basis for the development of novel disease biomarkers and therapeutic or preventive targets in the management of viral diseases.

ESCAPE PATHWAYS OF HIV-1 X4 TROPIC VIRUSES THAT ARE RESISTANCE TO PEPTIDES CORRESPONDING TO THE N-HEPTAD REPEAT REGION (HR1) OF GP41

Min Zhuang¹, Wei Wang², Hong Ling¹ and Carol D. Weiss²

¹ Department of Microbiology, Harbin Medical University, Harbin, China;

² Center for Biologics Evaluation and Research, US Food and Drug Administration, Bethesda, Maryland, 20892

The Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) fusion process is an important step for the development of drugs to prevent virus infection. Peptides corresponding to the N- (HR1) and C-terminal (HR2) heptad-repeat regions of HIV-1 gp41 envelope glycoprotein, N and C peptides, are potent inhibitors of viral fusion. To gain insight into the envelope glycoprotein (Env) entry mechanism, we studied resistance to two different N peptides: N36 corresponding to 36 residues in HR1 and IZN36 corresponding to N36 fused to a synthetic coiled-coil trimerization domain. We used a virus with an X4 tropic env to generate several cultures resistant to either peptide and observed two genetic pathways for N36 resistance defined by early acquisition of a mutation at either residue 560 in HR1 or residue 648 in HR2. Interestingly, cultures resistant to IZN36 only revealed the pathway defined by substitution at residue 637 in HR2 following the mutation at 560 in HR1. Biophysical studies suggest that resistance mutations improved the stability of the 6 helix-bundle compared to wild-type and analysis of the 6 helix-bundle structure suggests that the positions conferring resistance are located along the interface of HR1 and HR2, rather than along the central axis between neighboring HR1 helices. The data support a general mechanism for inhibition and resistance to these inhibitors, despite the possibility of different subtleties in how they may interact with gp41. Implications for the mechanisms of Env fusion, resistance, and inhibitor design will be discussed. (This work was supported by the National Natural Science Foundation of China 81201321.)

SCREENING AND CHARACTERIZATION OF PURINE NUCLEOSIDE DEGRADING LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM CHINESE SAUERKRAUT AND EVALUATION OF THE SERUM URIC ACID LOWERING EFFECT IN HYPERURICEMIC RATS

Ming Li, Dianbin Yang, Lu Mei, Ao Xie, Jieli Yuan

Dalian Medical University, Dalian, Liaoning, China

Hyperuricemia is well known as the cause of gout. In recent years, it has also been recognized as a risk factor for arteriosclerosis, cerebrovascular and cardiovascular diseases, and nephropathy in diabetic patients. Foods high in purine compounds are more potent in exacerbating hyperuricemia. Therefore, the development of probiotics that efficiently degrade purine compounds is a promising potential therapy for the prevention of hyperuricemia. In this study, fifty-five lactic acid bacteria isolated from Chinese sauerkraut were evaluated for the ability to degrade inosine and guanosine, the two key intermediates in purine metabolism. After a preliminary screening based on HPLC, three candidate strains with the highest nucleoside degrading rates were selected for further characterization. The tested biological characteristics of candidate strains included acid tolerance, bile tolerance, anti-pathogenic bacteria activity, cell adhesion ability, resistance to antibiotics

and the ability to produce hydrogen peroxide. Among the selected strains, DM9218 showed the best probiotic potential compared with other strains despite its poor bile resistance. Analysis of 16S rRNA sequences showed that DM9218 has the highest similarity (99%) to *Lactobacillus plantarum* WCFS1. The acclimated strain DM9218-A showed better resistance to 0.3% bile salt, and its survival in gastrointestinal tract of rats was proven by PCR-DGGE. Furthermore, the effects of DM9218-A in a hyperuricemia rat model were evaluated. The level of serum uric acid in hyperuricemic rat can be efficiently reduced by the intragastric administration of DM9218-A ($P < 0.05$). The preventive treatment of DM9218-A caused a greater reduction in serum uric acid concentration in hyperuricemic rats than the later treatment ($P < 0.05$). Our results suggest that DM9218-A may be a promising candidate as an adjunctive treatment in patients with hyperuricemia during the onset period of disease. DM9218-A also has potential as a probiotic in the prevention of hyperuricemia in the normal population.

EXPLORATION AND DEVELOPMENT OF FUNCTIONAL GENOMICS WITH ANTITUMOR FUNCTION FROM LENTINULA EDODES C₉₁₋₃ TRANSCRIPTOME BY DEEP SOLEXA SEQUENCING

Mintao Zhong, Min Huang

Department of Medical Microbiology, Dalian Medical University, Dalian 116044, China

Lentinula edodes has been utilized as food, as well as, in popular medicine, moreover, its extract isolated from its mycelium and fruiting body has shown several therapeutic properties. Yet little is understood about its genes involved in these properties, and the absence of *L. edodes* genomes has been a barrier to the development of functional genomics research. However, high throughput sequencing technologies are now being widely applied to non-model species. To facilitate research on *L. edodes*, we leveraged Solexa sequencing technology in de novo assembly of *L. edodes* C₉₁₋₃ transcriptome. In a single run, we produced more than 57 million sequencing reads. These reads were assembled into 28,923 unigenes sequences (mean size = 689 bp) including 18,120 unigenes with coding sequence (CDS). Based on similarity search with known proteins, assembled unigene sequences were annotated with gene descriptions, gene ontology (GO) and clusters of orthologous group (COG) terms. Our data provides the first comprehensive sequence resource available for functional genomics studies in *L. Edodes*. According on the transcriptome, we have selected 17 Unigenes related to antitumor function, and then cloned and expressed the proteins named latricrin successfully. In a whole, transcriptome by deep solexa sequencing would supply a novel way to study functional genomics.

INVESTIGATION OF THE REGULATORY EFFECTS OF PURSLANE POLYSACCHARIDE ON THE INTESTINAL MICROECOLOGY AND THE IMMUNITY IN ULCERATIVE COLITIS MICE

Shuxia Ma

School of Basic Medical Sciences, Jiamusi University, China

Objective. To study the regulatory effects of purslane polysaccharide on the intestinal microecology and the immunity in ulcerative colitis mice.

Methods. Mice were randomly divided into three groups: model group, natural recovery group (negative control group), purslane polysaccharide treatment group. Each mouse in purslane polysaccharide treatment group is intragastric administration with 0.5 g/mL purslane solution 0.3 mL, 2 times a day, continuous 7 d. Normal control group, natural recovery group of mice are intragastric administration with the same amount of saline solution. A week latter, the mice are put to death. Take intestinal contents, liver, blood, intestinal mucosa and detect this index: intestinal flora and bacterial endotoxin in the blood, volatile fatty acids of intestinal contents, bacterial translocation, intestinal mucosa pathological liver, cytokines, and intestinal mucosa sIgA.

Result. After made model by DSS, mice occur bloody stools, the intestinal dysbacteriosis, blood endotoxin content increase, volatile fatty acid of intestinal contents decreased obviously, liver has intestinal bacteria translocation, intestinal mucosa damage is serious. Intestinal mucosa TNF alpha and IL-6 increase, IL-10 and sIgA decrease. Treated with purslane polysaccharide for 7 d, the treatment group mice feces basically returned to normal. The number of intestinal bifidobacterium and lactobacillus increase, blood endotoxin levels decrease, volatile fatty

acid of intestinal contents increased significantly, intestinal bacteria in liver decrease, damage of intestinal mucosa basically repair. Intestinal mucosa TNF alpha and IL – 6 decrease, IL – 10 and sIgA increases.

Conclusion. Purslane polysaccharide has certain therapy effect on ulcerative colitis by adjusting the microecological imbalance and improving immune function.

INNATE IMMUNITY AGAINST HBV INFECTION, ROLE AND MECHANISM OF TRIM22

Sidong Xiong^{1,2}, Bo Gao¹.

¹ Institute for Immunobiology, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, People's Republic of China; ² Institutes of Biology and Medical Science, Jiangsu Provincial Key Laboratory of Infection and Immunity, Soochow University, Suzhou 215123, People's Republic of China

Members of the tripartite motif (TRIM) family are a part of the innate immune system to counter intracellular pathogens. We report for the first time that TRIM22 is involved in antiviral innate immunity against hepatitis B virus (HBV). TRIM22 is found robustly up-regulated by interferons (IFN) in human hepatoma HepG2 cells and could dose-dependently inhibit HBV gene expression and replication in cellular as well as murine model system. Further mechanism study revealed that TRIM22 could inhibit the activity of HBV core promoter (CP) in a dose-dependent manner. TRIM22-mediated anti-HBV activity is dependent on its nuclear-located RING domain, while the SPRY domain seemed essential for both nuclear localization and HBV inhibition function of TRIM22. We also demonstrated the E3 ubiquitin ligase activity of TRIM22 for proteasomal degradation is the main molecular mechanism of TRIM22 for inhibition of HBV replication. Since IFN- γ is crucial for the noncytopathic clearance of HBV, we further demonstrated that IFN- γ -induced expression of TRIM22 was dependent on a novel cis-element termed 5'extended IFN-stimulating response element (5'eISRE) identified by our group. Upon IFN- γ stimulation the 5'eISRE was bound by IRF-1, not STAT-1, leading to an IRF-1-dependent induction of TRIM22. Our study suggests that TRIM22, with a novel HBV-transcriptional suppressive activity, plays an important role in the innate control of HBV.

TLR13 INNATE IMMUNITY IN CVB3 ACUTE MYOCARDITIS

Wei Xu, Qian qian.

Institutes of Biology and Medical Science, Jiangsu Provincial Key Laboratory of Infection and Immunity, Soochow University, Suzhou 215123, People's Republic of China

Viral myocarditis (VMC) is a predominant cause of heart failure and sudden death in adolescents. Coxsackievirus B3 (CVB3) infection of the myocardium and the associated inflammatory response are important determinants of VMC. Innate Pattern Recognition Receptors (PRRs) immunity provides fast early response to infections and extensively influences the outcome of tissue pathology caused by viral infection. By screening murine cardiac PRRs expression profiles, we found TLR13, a novel but uncharacterized bacteria-sensing TLR, was most abundantly up-regulated upon CVB3 infection. A significantly reduced acute myocarditis but elevated cardiac viral replication was verified in TLR13 KO mice. And this myocarditis-protective effect was associated with a significant reduction of cardiac proinflammatory cytokines including IL-1 β , TNF- α and IFN- γ through reducing TLR13-activated NF- κ B signaling in cardiac-infiltrated macrophages. Meanwhile TLR13 limits early viral replication by significantly increasing IFN- γ production via IRF-7 signaling within cardiomyocytes. We show for the first time that TLR13 innate immunity plays an important dual role on acute CVB3-myocarditis. These findings provide insights on the role of innate immunity in acute viral myocarditis and might help us find new therapeutic targets for viral cardiac inflammation.

GENOTYPING AND SUBTYPE ANALYSIS OF ANIMAL-DERIVED *CRYPTOSPORIDIUM*, *GIARDIA DUODENALIS* AND *ENTEROCYTOZON BIENEUSI* ISOLATES AS WELL AS EVALUATION OF ZONOTIC TRANSMISSION

Weizhe Zhang¹, Wei Zhao¹, Fengkun Yang¹, Longxian Zhang², Yujuan Shen³, Jianping Cao³, Rongjun Wang², Aiqin Liu, Hong Ling

¹Harbin Medical University, Heilongjiang Provincial Key Laboratory for Infection and Immunity, Heilongjiang Key Laboratory for Pathogen Biology, Harbin, China; ²College of Animal Science and Veterinary Medicine, Henan Agricultural University, Zhengzhou, China; ³National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Key Laboratory of Parasite and Vector Biology, Ministry of Health, WHO Collaborating Centre for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis, Shanghai, China

Cryptosporidium spp., *Enterocytozoon bieneusi* and *Giardia duodenalis* are important intestinal protozoa in humans and animals worldwide. The infective oocysts, cysts and spores of from animals are ubiquitous in the environment. The disease caused by *Cryptosporidium* spp., *E. bieneusi* and *G. duodenalis* can be acquired through the fecal-oral route. Based on the fact of cross species/genotypes of these parasites in animals and humans as well as limitation of prophylactic and therapeutic treatment drugs, an important aspect to prevent/control their infection in humans is to understand epidemiology of *Cryptosporidium* spp., *E. bieneusi* and *G. duodenalis* in animals. It has been reported that there are geographical differences in population, and genetic characterizations of these parasites. To understand the roles that animals play in the transmission of cryptosporidiosis, giardiasis and microsporidiosis caused by *E. bieneusi* in Heilongjiang Province, we genotyped and subtyped animal-derived isolates of *Cryptosporidium* spp., *E. bieneusi* and *G. duodenalis*. Eight *Cryptosporidium* species/genotypes — *C. parvum*, *C. umbquitum*, *C. bovis*, *C. ryanae*, *C. cuniculi*, *C. meleagridis*, *C. andersoni*, *C. xiaoi*, *C. baileyi* and rat genotype II have been identified and all of them have been reported in humans except rat genotype II. Three *G. duodenalis* assemblages/genotypes, assemblages A, B and E, have been found and all of them have been reported in humans. 36 genotypes of *E. bieneusi* have been identified, including 12 known genotypes D, EbpA, EbpC, H, O, LW1, CS1, I, J, BEB4, BEB6 and Peru6 and 24 novel genotypes, and nine known genotypes have been found in humans. The findings of zoonotic pathogens in local animals suggest possibility of zoonotic transmission and public health significance. The findings of novel genotypes might present the endemic genetic characterization of population structure of these parasites.

AIRWAY DYSBIOSIS IN EARLY LIFE IS ASSOCIATED WITH ELEVATED ALLERGIC RESPIRATORY INFLAMMATION

Wenkai Yu¹, Xiaopeng Yuan¹, Xingche Xu¹, Li Tang, Yuejian Liu, Rui Ding, Liyuan Pang, Jin Zhang, Yinhui Liu, Huajun Li, Ming Li, Yanjie Guo, Shu Wen

Department of Microecology, College of Basic Medical Sciences, Dalian Medical University, Dalian, Liaoning, China. ¹These authors contributed equally to this work.

An increased prevalence of allergic disorders in developed countries has been associated with reduced exposure to environmental microorganisms and alteration of microbiota colonization. It suggests that airway microbiota may be important in shaping airway immune response as long as the airway dysbiosis was observed in allergic disease. In this study, allergic airway inflammation was induced in specific pathogen-free (SPF), antibiotic treated rats and control rat by sensitization and challenge with ovalbumin. Alterations in airway microbiota colonization, the asthma-like symptoms, allergic airway inflammation resulting cellular infiltrating and cytokine production were measured to elucidate the influence of airway dysbiosis in early life on the sensitivity to allergen and elucidate the underlying immune mechanisms. Our results showed that the diversity of airway microbiota in SPF rat decreased compared with control rat, the more frequent microbiota in control rats were *Proteobacteria* and *Bacteroidetes*. In addition, elevated nasal rubbing and sneezing combined with exaggerated IgE production and leukocyte number, decreased ratio of IFN- γ /IL-4 level and Treg cell population was observed in OVA-treated SPF rat. At the same time, our results showed that the diversity of airway microbiota in BALF was significantly

decreased in antibiotic rats compared with control rats, and potentially harmful microorganisms were expanded. The nasal rubbing frequency and sneezing number in antibiotic rats were increased. Elevated thickness of epithelial and number of infiltrating lymphocytes in lung tissue combined with an exaggerated number of leukocyte and eosinophil in BALF in antibiotic rats. Furthermore, the ratio of Th1 associated cytokines IFN- γ /Th2 associated cytokines IL-4 was significantly lower, while the Treg cell population was lower in the antibiotic group compared with the control group. These data elucidated that the excessive "hygienic" environment as well as antibiotic treatment resulted in airway dysbiosis in infancy, leading to an increased susceptibility to allergic disease.

THE MUTATIONS ANALYSIS OF THE REVERSE TRANSCRIPTASE DOMAIN OF HBV POLYMERASE IN NUCLEOSIDE ANALOGUES CROSS-RESISTANT PATIENTS

Xu Teng, Lijuan Fu, Yanxiu Ma, Hongxi Gu

Department of Microbiology, Harbin Medical University, Harbin 150081, Heilongjiang, China

Aims. The study focused on hepatitis B virus (HBV) mutations during a variety of nucleoside analogues (NAs) sequential treatment.

Material and Methods: 6 adult patients with HBV NAs cross-resistance were enrolled this study. The amplified HBV full-length genomes of 6 NAs cross-resistant mutants were cloned into pMD18T and sequenced. The gene mutations in those cloned HBV genomes had been compared and analyzed.

Results. All samples were genotype C and the major NAs cross-resistant mutations were rtM204V/I (n=50%), rtL180M (n=16.7%), rtV173L (n=16.7%) and rtL80I (n=16.7%). In addition, some secondary mutations such as rtL269I (40%), rtQ333K (56.7%), rtH337N (56.7%) were found (Table).

Conclusion. The study suggested that these secondary mutations in RT region could enhance the replication capacity of HBV YMDD variant, and enlarge HBV quaspecies variant populations which caused the emergence of multi-drug resistant mutant virus during sequential or combination therapy with Lamivudine, Entecavir, Adefovir, Telbivudine.

This work was supported by National Natural Science Foundation of China, Grant No. 31100077.

Table

HBV RT mutations in NAs-resistant patients

Genotype	Clone code	Polymerase	
		Main	Secondary
C	P3-1, P3-2, P3-3, P3-4, P3-5	rtV173L, rtL180M, rtM204V	rtQ118K, rtL269I, rtQ333K, rtH337N
C	P2-1, P2-2, P2-3	rtM204I	rtL269I, rtQ333K, rtH337N
C	P5-4, P5-5	rtM204I	rtL269I, rtQ333K, rtH337N
C	P4-3, P4-4		rtD134E, rtQ333K, rtH337N
C	P6-1, P6-2, P6-3, P6-4, P6-5	rtM204I, rtL80I	rtS317A, rtQ333K, rtH337N
C	P1-2, P1-3		rtT47S, rtL269I

INHIBITOR OF GROWTH 4 EXPRESSION DECREASED IN CERVICAL CANCER TISSUES

Yan Wang, Tianying Wang, Lei Tong, Lexun Lin, Weizhen Xu, Sijia Chen, Lanlan Wei, Zhao Hua Zhong

Department of Microbiology, Harbin Medical University, Harbin 150081, China

This work was supported by the Natural Science Foundation of China (81101235), and Natural Science Foundation of Heilongjiang Province (D201065).

Aims. Inhibitor of growth 4 (ING4), as a tumor suppressor candidate, plays an important role in multiple processes including DNA repair, cell cycle control, tumor metastasis and angiogenesis.

Material and methods: ING4 expression on mRNA and protein levels in cervical cancer was tested, using RT-PCR, Western blot and immunohistochemistry. Correlation with the progression of malignancy was analyzed. 18 clinical samples from cervical cancer patients were investigated. The correlation of ING4 expression with the clinical-pathological features of the patients was analyzed. Furthermore, the correlation between ING4 and HPV E6/E7 transcription level in SiHa cells was explored.

Results. We found that ING4 expression decreased significantly at mRNA and protein levels in cervical cancer tissues compared with paracarcinoma tissues. Subcellular localization analysis of ING4 showed that ING4 decreased in the nucleus of cervical cancer tissues. Ectopic expression of ING4 suppressed SiHa cells proliferation, accompanied by HPV E6/E7 transcription decrease.

Conclusion. ING4 expression decreased in human cervical cancer tissues. Reconstitution of ING4 expression in cervical cancer cells revealed the accompany with decreased HPV E6/E7 transcription. These data suggest that ING4 expression has potential diagnostic and prognostic significance for cervical cancer.

DISTINCT EFFECTS OF DIFFERENT ISOFORMS OF HOST CANONICAL MEK-ERK PATHWAY ON VIRAL AMPLIFICATION

Yihong Peng

Department of Microbiology, Peking University Health Science Center, 38 Xueyuan Road, Beijing 100191, PR China

During infection, viruses utilize various components of the host cell's metabolic machinery to amplify themselves. MEK-ERK signal pathway, one of the host cellular Raf/MEK/ERK (ERK) signal cascade, necessary for the cell proliferation, migration, division etc, has been demonstrated to play a critical role for a plenty of viruses' efficiency amplification.

In the triple layer of kinases making up the canonical MEK-ERK signaling cascade, MEK1 and MEK2 are two isoforms of the kinase operating immediately upstream of ERK1 and ERK2 subtypes, and connecting Raf and ERKs by phosphorylating ERK. It is now clear that different layer isoforms of the ERK pathway have distinct functions in normal cellular metabolism, however little is known on their possibly different roles in viral propagation.

Herpes Simplex Virus (HSV-2, a DNA virus) and Enterovirus 71 (EV71, a RNA virus) have quite different life cycles and replication modules, our study focuses on the role(s) of MEK and ERK subtypes in viral amplification. We revealed that MEK1 and MEK2 act differently in HSV-2 and EV71 production, only MEK1, but not MEK2, is required for virus amplification. While both ERK1 and ERK2, the two downstream kinase subtypes of MEKs, are required for EV71 efficient replication. Therefore, It is MEK1-ERKs model that is essential for efficiency viral replication. To our knowledge, this is the first report showing the role(s) of MEK and ERK isoforms in viral replication. This study also suggests that MEK1 could be a potential target to develop new safer anti-virus drugs.

ALTERATIONS OF INTESTINAL MICROBIOTA IN THE IRRITABLE BOWEL SYNDROME PATIENTS

Ying Wang, Shu Wen, Yin-Hui Liu, Yan-Jie Guo, Jing Wang, Li Tang

Department of Microecology Dalian Medical University, 9 West Lvshun Southern Road 116044 Dalian China; Shan Dong Phoenix Biology Ltd. Co

Objective. Analyze differences in fecal microbiota of irritable bowel syndrome (IBS) patients, and explore their feature between the sex, age and sub-type.

Methods. Fecal microbiota sequencing methods by Illumina Miseq on Variable regions V3-V4 of the 16S rRNA.

Results. The differences between intestinal microbiota of IBS and HC. Intestinal microbiota of IBS group differed significantly from that of healthy controls (HC), they increased in *Streptococcus*, *Veillonella*, *Enterococcus*, *Granulicatella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Raoultella*, *Rothia* and *Actinomyces* (P<0.05), reduced abundance of *Bacteroides*, *Odoribacter*, *Megasphaera*, *Subdoligranulum*, *Lachnospira*, *Mitsuokella*, *Marvinbryantia*, *Roseburia*, *Desulfovibrio* and *Bifidobacteria* (P<0.05); they increased in *Citrobacter gillenii*, *Streptococcus anginosus*, *Actinomyces odontolyticus* (P<0.05).

The alteration of intestinal microbiota between IBS and HC from the sex. (1) The *Enterobacter* and *Citrobacter* of male IBS group are higher levels than control on genera (P<0.05), and lower levels in *Megasphaera*, *Desulfovibrio* *Prevotella stercorea*, *Megasphaera elsdenii*. (2) The *Megasphaera*, *Streptococcus* of female IBS group are higher levels than control, (P<0.05); *Phascolarctobacterium*, *Lachnospira*, *Oscillibacter*, *Desulfovibrio*, *Bifidobacteria*, *Odoribacter* and bacterial species including *Bacteroides uniformis*, *Bacteroides eggerthii*, *Bifidobacteria wadsworthia*, uncultured *Desulfovibrio* sp, butyrate-producing bacterium GM2/1, uncultured *Rumino-*

coccaceae bacterium, butyrate-producing bacterium A2-207 are lower level.

The alteration of intestinal microbiota between IBS and HC in the age. (1) Microbiota diversity of IBS group in age of 31-40 decreases compared to control ($P < 0.05$). (2) IBS group are higher levels in *Enterobacter*, *Streptococcus*, *Veillonella*, *Haemophilus* and the species *Dialister succinatiphilus*, *Lactobacillus phage Sal3*, *Bacteroides clarus* in age of 41-50 than control ($P < 0.05$); they are lower levels in *Odoribacter*, *Phascolarctobacterium*, *Lachnospira*, *Desulfovibrio*, *Mitsuokella*, *Bilophila* and the species *Bacteroides vulgatus* (ATCC 8482), *Megasphaera elsdenii*, uncultured *Desulfovibrio* sp, *Clostridium clostridioforme*, *Bilophila wadsworthia* ($P < 0.05$). (3) IBS group in age of 51-60 are higher levels in *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Enterococcus* on the genera, *Raoultella*, *Rothia* and *Collinsella stercoris*, *Streptococcus anginosus* on the species than control ($P < 0.05$); they are lower levels in *Desulfovibrio* and on the species *Prevotella stercorea*, *Ruminococcus bromii*, *Bacteroides eggerthii*, uncultured *Clostridiales bacterium*, butyrate-producing bacterium A2-207 on the genera than control. ($P < 0.05$).

The alteration of intestinal microbiota in IBS Inter-group. (1) Intestinal microbiota of IBS constipation group (IBS-C) differed from that of IBS diarrhea group (IBS-D), IBS-C are more abundance in *Anaerotruncus*, *Parasutterella*, *Bilophila*, *Atopobium* on the genera and *Alistipes indistinctus* (YIT 12060), *Prevotella stercorea*, *Alistipes finegoldii*, bacterium YE57, *Clostridium hathewayi* on the species than IBS-D ($P < 0.05$).

Conclusion. Intestinal microbiota of IBS patients is more different in age, sex and type than health controls.

SMALL RNA REGULATES THE BACTERICIDAL ACTIVITY OF CIPROFLOXACIN AGAINST ESCHERICHIA COLI

Yingmei Fu^{1,2,3}, Rui Sun^{1,2}, Zhiwei Zhang^{1,2}, Ogutu O. James^{1,2}, Wenjing Li^{1,2}, Wenli Zhang^{1,2}, Jizi Zhao^{1,2}, Fengmin Zhang^{1,2,3*}

¹ Wu Lien-Teh Institute, Harbin Medical University; ² Department of Microbiology, Harbin Medical University; ³ Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Infection and Immunity, Harbin Medical University, Harbin, China

This work was supported by grants from National Natural Science Foundation of China (NSFC) (81101300, 31370164). *Email: fengminzhang@ems.hrbmu.edu.cn

Aims. Bacterial small RNA (sRNA) is one of the most important mechanisms for rapidly sensing environmental factors and act in the post-transcriptional regulation regulatory networks. However, it is unclear how sRNA participates in bacterial response and antibiotic resistance. It has been found that ciprofloxacin exposure could induce increased levels of bacterial reactive oxygen species (ROS). The objective of this study was to investigate the role of sRNA in ciprofloxacin resistance.

Materials and Methods. Five sRNAs, including RyhB, ArcZ, GcvB, OxyS and GlmZ, were selected according to the bioinformatics prediction and preliminary experimental results. Levels of these sRNA were detected by real-time PCR after ciprofloxacin treatment in clinical isolate of *E. coli*. Ciprofloxacin-resistant mutants and GlmZ over expression strain of *E. coli* were constructed. Accumulation of ciprofloxacin, sRNA expression levels and oxidative stress levels after ciprofloxacin treatment were detected in these strains.

Results. Basal expression levels of the five sRNA in clinical ciprofloxacin-resistant strains were higher than those in sensitive strains. After ciprofloxacin treatment, RyhB level was reduced by 2.5fold, levels of GcvB and GlmZ were increased by 2.0 and 6.0 fold, respectively. Basal expression levels of GlmZ in ciprofloxacin-resistant mutants of *E. coli* MG1655 were higher than those in wild type. GlmZ expression levels were increased after treatment of ciprofloxacin in a dose-dependent manner. In GlmZ over expression strains, GlmZ basal level was increased by 1000 times compared with the control strain. ROS levels were remained the same level by ciprofloxacin exposure in ciprofloxacin-resistant mutants and GlmZ over expression strains. Ciprofloxacin accumulations in these strains were same to the parent strains.

Conclusions. GlmZ plays a protective role by inhibiting oxidative stress induced by ciprofloxacin action and thus may contribute to ciprofloxacin resistance in *E. coli*.

MOLECULAR EPIDEMIOLOGY AND MECHANISMS OF OCCULT HBV INFECTION IN NORTH OF CHINA

Yong Fang, Sijia Chen, Yanxiu Ma, Xu Teng, Weizhen Xu, Hongxi Gu

Wu Lien-Teh Institute, Harbin Medical University; Department of Microbiology, Harbin Medical University; Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Infection and Immunity; China-Russian Institute for Infection and Immunity

This research was supported by National Natural Science Foundation of China (No. 81301703) and Natural Science Foundation of Heilongjiang Province, China (No. QC2013C078).

Objective. To investigate the prevalence and the mechanism of occult Hepatitis B Virus (HBV) infection among cryptogenic chronic liver disease patients and hepatitis B surface antigen (HBsAg) negative hepatocellular carcinoma (HCC) patients in north of China.

Methods. The HBV DNA in 393 sera samples collected from cryptogenic chronic liver disease patients (215), hepatitis B surface antigen (HBsAg) negative hepatocellular carcinoma (HCC) patients (178) were tested by nested PCR. Full-length HBV DNA from eight patients with occult HBV infection (S1-S8) and three HBsAg positive cases (SWT1-SWT3) was cloned and sequenced. Additionally, four entire linear HBV genomes from occult cases were transfected transiently into HepG2 cells.

Results. Prevalence of occult HBV infection was 23.7% (51/215) and 68.5% (122/178) in cryptogenic chronic liver disease patients, HBsAg-negative HCC patients, respectively. The sequencing results showed two major mutations in patients with occult HBV infection as follows: deletions in the pre-S1 (S3, S4, and S7) and X (S1, S2, and S5) regions. Such deletions covered the S promoter and the basal core promoter (BCP), and function analysis of these variants also showed a decrease in DNA replication and antigen expression.

Conclusion. The prevalence of occult HBV infection was significantly high among cryptogenic chronic liver disease patients and HBsAg-negative HCC patients in north of China. The deletions in the S promoter and the BCP regions that disable the regulatory elements may be the reason for the absence of HBsAg, and multiple mechanisms may be responsible for occult HBV infection. Thus, more meticulous attention should be given to prevent HBV transmission in endemic areas, and further studies on clinical implication and mechanism of occult HBV infection are required.

INTERACTION BETWEEN TOXOPLASMA GONDII AND HOST CELL

Yonghua Zhou and Xiaoling Fan

Jiangsu Institute of parasitic Disease; Key Laboratory on Technology for Parasitic Disease Prevention and Control, Ministry of Health, Wuxi, Jiangsu 214064, China

Toxoplasma gondii (*T.g*) is widely distributed opportunistic pathogen that can infect all warm-blooded animals, including human and cause zoonotic toxoplasmosis. Many studies have suggested *T.g* infection as a risk factor for the development of some neuropsychiatric disorders. The interaction of *T.g* and the central nervous system (CNS) after *T.g* entering the CNS, in the entire process, related neurological symptoms caused by their interaction. Apoptosis plays crucial roles in the interaction between the host and the parasite. Apoptosis is restricted by indirect mechanisms in uninfected by stander cells, thereby modulating the inflammatory response to the parasite. On the contrary, inhibition of apoptosis in infected host cells by a direct interference with apoptosis-signaling cascades is thought to facilitate the intracellular development of *T.g*. The interesting dual activities of *T.g* to both promotion and inhibition in apoptosis require a compact regulation to promote a stable parasite host-interaction and establishment of continuous toxoplasmosis. Microglia is the resident immune cells in the CNS that are activated in response to injury, inflammation or the presence of pathogens. Activated microglia secretes inflammatory cytokines, which can induce neuronal apoptosis. Autophagy has recently been implicated in the host defense against the *T.g* pathogen. The role of autophagy in parasite elimination in astrocytes, a dominant host cell in the CNS, is much less clear. Recent studies indicate autophagy may be involved in the elimination of the degraded parasite material from the astrocyte host cell cytoplasm and suggest that autophagous removal of degraded parasite material may be necessary for survival of the host cell. This article focused on *T.g* related host nervous cell apoptosis and autophagy, it will provide a valuable reference for fully understanding host-pathogen relationship. The mechanism of interaction of *T.g* and the

nervous cell of host will be further disclosed.

ID1 EXPRESSION PROMOTES T REGULATORY CELL DIFFERENTIATION BY FACILITATING TCR COSTIMULATION

Yu Zhang

Department of Immunology, Peking University Health Science Center

T regulatory (Treg) cells play crucial roles in the regulation of cellular immunity. The development of Treg cells depends on signals from TCRs and IL-2Rs and is influenced by a variety of transcription factors. The basic helix-loop-helix proteins are known to influence TCR signaling thresholds. Whether this property impacts Treg differentiation is not understood. In this study, we interrogated the role of basic helix-loop-helix proteins in the production of Treg cells using the CD4 promoter-driven Id1 transgene. We found that Treg cells continued to accumulate as Id1 transgenic mice aged, resulting in a significant increase in Treg cell counts in the thymus as well as in the periphery compared with wild-type controls. Data from mixed bone marrow assays suggest that Id1 acts intrinsically on developing Treg cells. We made a connection between Id1 expression and CD28 costimulatory signaling because Id1 transgene expression facilitated the formation of Treg precursors in CD28⁺ mice and the in vitro differentiation of Treg cells on thymic dendritic cells despite the blockade of costimulation by anti-CD80/CD86. Id1 expression also allowed in vitro Treg differentiation without anti-CD28 costimulation, which was at least in part due to enhanced production of IL-2. Notably, with full strength of costimulatory signals, however, Id1 expression caused modest but significant suppression of Treg induction. Finally, we demonstrate that Id1 transgenic mice were less susceptible to the induction of experimental autoimmune encephalomyelitis, thus illustrating the impact of Id1-mediated augmentation of Treg cell levels on cellular immunity.

BORN DISEASE VIRUS INDUCE AUTOPHAGY IN OLIGODENDROGLIAL CELLS

Yujun Li, Lan Sun, Cuiyu Liu, Fengmin Zhang

Department of microbiology, Harbin medical University; Key Lab for infection and immunity of Heilongjiang Province, Key Lab for pathogenic biology of Heilongjiang Province education bureau, Harbin, P.R. China

Previous studies found that lots of virus can promote or inhibit autophagy, our results found that born disease virus (BDV) could promote autophagy, but the relationship between BDV and autophagy is unclear, we will confirm the effect of autophagy on virus replication and on the persistent infection status.

In this study, we detected the formation of autophagosome in BDV infected oligodendroglial cells (OL/BDV) by electron microscope, the formation of autophagosome can be observed in OL/BDV cells, the same results were also observed in oligodendroglial cells (OL) transfected with pGFP-BDV N, pGFP-BDV P and pGFP-BDV X eukaryotic expression vector. The pGFP-LC3 accumulation point in BDV infected cells was detected by fluorescence microscopy, the results show that LC3 accumulation point quantity increased significantly in OL/BDV cells than in oligodendroglial cells. LC3B protein quantitatively was measured by western blotting. The results show that LC3B protein level of OL/BDV cells significantly higher than in oligodendroglial cells, LC3B protein level in OL transfected with 3 eukaryotic expression vectors also higher than control group respectively. All the results confirm that the autophagy level of BDV persistent infected cells obvious enhanced, and three kinds of BDV main protein can induce autophagy in OL cells, respectively.

TGF- β 1 REGULATES FASL BY TARGETING MIR-21 IN KELOID FIBROBLAST

Zhibo Xiao

Department of plastic surgery, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, China

Objective. MicroRNAs (miRs) are small non-coding RNA molecules consisting of 19-25 nucleotides in length that typically role as negative regulators of expressing many target genes involved in cell proliferation, differentiation and apoptosis. The aim of this study was to determine whether microRNA-21 (miR-21), a specific microRNA implicated in multiple aspects of keloid fibroblasts, impacts the expression of FasL in the presence of TGF- β 1.

Methods. Relationship between TGF- β 1 and miR-21 expression were investigated by Taqman quantitative real-time PCR. FasL Protein was determined by Western Blotting, in cells transfected with antiTGF- β 1, oligonucleotides or miR-21 inhibitor. In addition, regulation of cell proliferation/migration/apoptosis ability by TGF- β 1, siRNA was evaluated respectively by EdU incorporation, Transwell assay and Flow cytometry analysis.

Results. We confirmed fibroblasts express high levels of TGF- β 1 and miR-21. Additionally, expression of TGF- β 1 and miR-21 were positively correlated in keloid fibroblasts. Further, cells transfected with TGF- β 1 inhibitor or miR-21 inhibitor showed significantly increased FasL protein levels and number of apoptotic cells compared to control cells, whereas significantly decreased cell growth and migration.

Conclusion. Our data suggests that TGF- β 1 could effectively influence cell proliferation, apoptosis, migration via its control of miR-21. These findings also identify a novel mechanism of interaction between TGF- β 1 and miR-21 in the regulation of protein of FasL which involved in keloid formation.

ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ STAPHYLOCOCCUS AUREUS – ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ПИЩЕВЫХ ТОКСИКОИНФЕКЦИЙ И СТАФИЛОДЕРМИИ НОВОРОЖДЕННЫХ, ИЗОЛИРОВАННЫХ В РОССИИ В 2012-2014 ГГ.

Абаев И.В., Скрыбин Ю.П., Коробова О.В., Дятлов И.А.

Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Россия

CHARACTERIZATION OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS STRAINS - FOODBORNE AND STAPHYLOCOCCAL SCALDED SKIN SYNDROME ASSOCIATED PATHOGENS ISOLATED IN RUSSIA IN 2012-2014 YEARS

Abaev I.V., Skryabin Yu.P., Korobova O.V., Dyatlov I.A.

State Research Center for Applied Microbiology & Biotechnology, Obolensk, Russia

Staphylococcus aureus – важнейший возбудитель инфекций человека, вызывающий более 100 нозологических форм заболеваний. Как известно, установлена корреляция между генетическими линиями *S. aureus* и специфическими нозологическими формами стафилококковой инфекции, а также продемонстрирована различная предрасположенность определенных клональных групп *S. aureus* к модификациям генома посредством горизонтального переноса генов, способствующих повышению вирулентности штаммов и тяжести вызываемой ими патологии. Установление связи между определенными формами инфекции и типом генетической структуры *S. aureus* позволяет обоснованно выявлять источники инфекции. Это особенно актуально для *S. aureus* вследствие его широкого распространения и высокой частоты идентификации при инфекциях, этиологически не связанных с данным возбудителем.

Цель работы – обзор результатов изучения штаммов *S. aureus*, выделенных при локальных вспышках стафилококковой инфекции в Российской Федерации в 2012-2014 годах.

Результаты. В процессе исследования идентифицированы основные клональные линии *S. aureus*, ответственные за пищевые токсикоинфекции и стафилодермии новорожденных. Получены данные о типах токсинов, ассоциированных с этими заболеваниями. Установлены факты циркуляция штаммов *S. aureus*, продуцирующих энтеротоксины классов А, В и С в разных регионах России. Идентифицированы и охарактеризованы бактериофаги, обеспечивающие ЕТА-конверсию штаммов *S. aureus*. Впервые выявлено расширение экологической ниши опасного генетического клона USA300 посредством приобретения гена эксфолиативного токсина.

Заключение. Необходим контроль над распространением актуальных для здравоохранения эпидемических линий *S. aureus*.

ВИРУСНАЯ НАГРУЗКА КАК ФАКТОР ПЕРСИСТЕНЦИИ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ РЕПРОДУКТИВНОГО ТРАКТА ЖЕНЩИН

Абрамовских О.С., Зотова М.А., Алехина К.А., Прокопьев Д.С.
Южно-Уральский государственный медицинский университет,
Челябинск, Россия

VIRAL LOAD AS A FACTOR IN THE PERSISTENCE OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS INFECTION OF THE WOMENS REPRODUCTIVE TRACT

Abramovskikh O. S., Zotova M.A., Alekhina K.A., Prokopen D.S.
South Ural state medical University, Chelyabinsk, Russia

Цель – изучить концентрацию ДНК вируса папилломы человека (ВПЧ) высокого риска у женщин с персистирующей ВПЧ-инфекцией.

Материалы и методы. Для установления факта персистенции ВПЧ высокого риска 120 женщинам через 6 и 12 месяцев после первичного обнаружения вируса проводили повторное ВПЧ-тестирование (выявление, дифференциацию и количественное определение ВПЧ высокого риска) методом ПЦР на приборе «Rotor-Gene» 6000 («Corbett Research», Австралия) с использованием тест-систем «АмплиСенс® ВПЧ ВКР генотип-FL» и «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-FL» производства ФГУН «ЦНИИЭ» Роспотребнадзора (г. Москва). Ретроспективно все женщины были разделены на 2 группы: 1 группа (n= 68) – пациентки с отрицательными результатами ВПЧ-теста через 6 и 12 месяцев (транзитное течение папилломавирусной инфекции - ПВИ), 2 группа (n=52) – пациентки с положительным ВПЧ-тестом через 6 и 12 месяцев (персистирующее течение ПВИ). Результаты концентрации ДНК ВПЧ выражали в Ig (ВПЧ на 10⁵ клеток человека) и оценивали следующим образом: вирусная нагрузка менее 3 Ig (порог клинической значимости) – малозначимая, от 3 до 5 Ig – значимая и более 5 Ig (порог прогрессии) – повышенная.

Результаты. При анализе данных вирусной нагрузки ВПЧ высокого риска в изучаемых группах женщин установили, что средняя концентрация вируса при транзитном течении ПВИ составила 3,26±0,32 Ig. Это сочеталось с преобладанием в 41,2% случаев малозначимой нагрузки. При персистирующем течении ПВИ средняя концентрация вирусной ДНК равнялась 4,28±0,33 Ig, что выше по сравнению с группой транзитного течения ПВИ (p=0,04). При этом у 42,4% пациенток преобладала значимая вирусная нагрузка, а частота встречаемости повышенной нагрузки составила 29%.

Заключение. Согласно полученным данным, вирусная нагрузка, превышающая порог клинической значимости (более 3 Ig ВПЧ на 10⁵ клеток человека), может способствовать персистенции вируса, что имеет большое практическое значение для своевременного предотвращения прогрессирования патологических изменений цервикального эпителия и развития необратимой неопластической трансформации.

Aim - to study the concentrations of the high risk human papillomavirus (HPV) DNA in women with persistent HPV infection.

Methods. To determine the fact of persistence of high-risk HPV after the initial detection of the virus 120 women were carried out second HPV-testing (detection, differentiation and quantification of high-risk HPV) in 6 and 12 months by PCR on the device «Rotor-Gene» 6000 («Corbett Research», Australia) using test systems «AmpliSens® HPV genotype WRC-FL» and «AmpliSens® HPV WRC screen-titre-FL» production FBIS «CRIE «Rospotrebnadzor (Moscow). In retrospect all the women were divided into 2 groups: group 1 (n = 68) - patients with a negative HPV-test in 6 and 12 months (transient human papillomavirus infection - PVI), group 2 (n = 52) - patients with a positive HPV -test in 6 and 12 months (persistent PVI). The results of HPV DNA concentration were expressed as Ig (HPV to 10⁵cells) and evaluated as follows: a viral load of less than 3 Ig (threshold of clinical significance) - irrelevant, from 3 to 5 Ig - significant and more than 5 Ig (threshold progression) - increased.

Results. Data analysis of viral load of high-risk HPV in the studied women groups found that the average concentration of the virus in the transient course of PVI was 3,26 ± 0,32 Ig. This was combined with the predominance of minor importance load in 41.2% of cases. In the persistent course of PVI average concentration of viral DNA was determined at 4,28 ± 0,33 Ig, that is higher in comparison to the group with transient course of PVI (p = 0.04). At the same time significant viral load prevailed in 42.4% of the patients and the frequency of high load

expression was 29%.

Discussion. According to the results, the viral load exceeding the threshold of clinical significance (more than 3 Ig HPV to 10⁵ human cells) may contribute to the persistence of the virus. This discovery is of great practical importance for the timely prevention of the pathological changes progression in the cervical epithelium and of the development of irreversible neoplastic transformation.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У МУЖЧИН

Абрамовских О.С., Летяева О.И., Прокопьев Д.С., Зиганшин О.Р.
Южно-Уральский государственный медицинский университет,
Челябинск, Россия

EPIDEMIOLOGICAL ASPECTS OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS INFECTION IN MALE PATIENTS

Abramovskikh O.S., Letyaeva O.I., Prokopiev D.S., Ziganshin O.R.
South Ural state medical University, Chelyabinsk, Russia

Цель – изучить частоту папилломавирусной инфекции у мужчин.

Материал и методы. Обследовали 102 мужчины (средний возраст – 32,3±1,9 года). Материалом для выделения ДНК вируса папилломы человека (ВПЧ) и последующей амплификации были соскобы эпителия уретры, взятые одноразовыми универсальными зондами. В качестве метода выявления, дифференциации и количественного определения ДНК ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВКР) использовали ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени при помощи диагностических наборов «АмплиСенс ВПЧ ВКР-СКРИН-ТИТР FRT» и «АмплиСенс ВПЧ ВКР-ГЕНОТИП FRT» производства Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (Москва). Анализ данных осуществлялся автоматически с помощью программы «AmpliSens FRT HR HPV Screen Quant Results Matrix.xls». Результаты концентрации ДНК ВПЧ выражали в Ig (ВПЧ на 100 тыс. клеток) и трактовали следующим образом: менее 3 Ig – малозначимая, от 3 до 5 Ig – значимая и более 5 Ig – повышенная вирусная нагрузка. ПЦР исследования проводили на четырехканальном амплификаторе «Rotor-Gene» 6000 («Corbett Research», Австралия).

Результаты. ВПЧ ВКР обнаружили у 36 пациентов (35,3%). В разном проценте случаев установили все 12 определяемых генотипа. Наиболее часто выявляемым был 16 тип – 21,67%, второе место занимал 52 тип (20%), ВПЧ 31, 51 типов выявляли с частотой 10%. В одинаковом проценте случаев определяли 45, 56, 58, 59 типы ВПЧ (6,67%). Реже наблюдали 18,33,35,39 типы ВПЧ ВР (менее 6%). Вирусная нагрузка среди ВПЧ-положительных мужчин составила 3,98±0,22 Ig ВПЧ на 10⁵ клеток.

При распределении вирусной нагрузки показано, что в 47,2% имела место значимая вирусная нагрузка, малозначимая и повышенная – в 27,8% и 25% соответственно.

Выводы. ВПЧ ВКР широко распространен среди мужчин (35,3%). В большинстве случаев выявили повышенную и значимую вирусную нагрузку, что является показателем необходимости обследования половых партнеров инфицированных лиц.

Aim - to study the incidence of human papillomavirus infection in male patients.

Material and methods. The study included 102 male patients (mean age - 32,3 ± 1,9 years). Material for DNA isolation of human papilloma virus (HPV) and subsequent amplification was urethral epithelial scrapings, taken by disposable universal probes. PCR with hybridization-fluorescence detection in real-time was used as a method of detection, differentiation and quantification of HPV high carcinogenic risk (HCR) using diagnostic kits «AmpliSens HPV WRC-SCREEN-TITLE FRT» and «AmpliSens WRC HPV genotype FRT «Production of the Central Research Institute of Epidemiology (Moscow). Data analysis was carried out automatically by the program «AmpliSens FRT HR HPV Screen Quant Results Matrix.xls». The results of HPV DNA concentration were expressed as Ig (HPV for 100 000 cells) and treated as follows: less than 3 Ig were insignificant, from 3 to 5 Ig - significant and more than 5 Ig - increased viral load. PCR studies were carried out by the quad amplifier «Rotor-Gene» 6000 («Corbett Research», Australia).

Results. HPV HCR was found in 36 patients (35.3%). All 12 defined genotype were identified in a different percentage. The most frequent detected type was 16 – 21,67%; type 52 (20%); 31, 51 types (10%). HPV types 45, 56, 58, 59 were identified as having of 6.67%. Less frequent

HPV types were 18,33,35,39 BP (less than 6%). Viral load among HPV-positive men was $3,98 \pm 0,22 \lg$ HPV 10^5 cells.

The distribution of viral load showed that in 47.2% there was a significant viral load, increased and insignificant viral load was found in 27.8% and 25%, respectively.

Conclusion. HCR HPV is widespread among mail patients (35.3%). In most cases, revealed an increased and significant viral load, which is indicative of the need to examine all sexual partners of infected persons.

ИЗУЧЕНИЕ ДНК-АЗНОЙ И А-ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ У КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ РОДА ENTEROBACTER

Абраров Р.А., Ахтариева А.А., Камалова А.А.

Башкирский государственный медицинский университет МЗ РФ, Уфа, Россия

STUDY OF DEOXYRIBONUCLEASE AND A-HEMOLYTIC ACTIVITY OF CLINICAL ISOLATES OF ENTEROBACTER TYPE BACTERIA

Abbrarov R.A., Akhtarieva A.A., Kamalova A.A.

Bashkir State Medical University of Ministry of Health of the Russian Federation, Ufa, Russia

Цель – изучить наличие ДНК-азной и α -гемолитической активностей у клинических штаммов бактерий рода *Enterobacter*.

Материалы и методы. 218 чистых культур *Enterobacter* spp. были предоставлены бактериологическими лабораториями Республиканской клинической больницы им. Куватова и Республиканской детской клинической больницы. Идентификацию культур проводили с использованием тест-систем «Enterotest» фирмы «Lachema» и компьютерной биохимической тест-системы типа API фирмы «Bio-Mérieux». Продукцию α -гемолизина определяли по рекомендациям З.Г. Габидуллина (1978), ДНК-азную активность – по С.Д. Jeffries et al. (1957). Результаты обрабатывали статистически с помощью программы Statistica 10,0. Для сравнения категориальных переменных определяли критерий χ^2 .

Результаты. α -гемолитическую активность среди *Enterobacter* spp. выявляли у 35 штаммов (16,1%), ДНК-азную – у 76 (34,9%). Среди клинических штаммов *Enterobacter* spp., продуцирующих α -гемолизин, 15 (42,9%) обладали высокой ДНК-азной активностью, 11 (31,4%) – средней, 9 (25,7%) – низкой. Среди клинических штаммов *Enterobacter* spp., не продуцирующих α -гемолизин, 6 (3,3%) обладали средней ДНК-азной активностью, 35 (19,1%) – низкой, у 142 (77,6%) она не была обнаружена. Таким образом, ДНК-азную активность статистически значимо ($p < 0,001$) чаще отмечали среди штаммов, продуцирующих α -гемолизин. При этом высокую ДНК-азную активность наблюдали только среди штаммов, обладающих α -гемолитической активностью. Выявили статистически значимую корреляцию между уровнем α -гемолитической активности *Enterobacter* spp. и выраженностью у них ДНК-азной активности ($r = 0,39, p < 0,001$).

Вывод. Клинические штаммы *Enterobacter* spp., обладающие α -гемолитической активностью, имели высокие значения ДНК-азной активности, что может оказывать существенное влияние на течение инфекционного процесса и выраженность клинических проявлений.

ВОЗБУДИТЕЛИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЦИСТИТОВ И ИХ АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Абсалямов А.Р. (студент 6 курса)

Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова, Нальчик, Россия

CAUSATIVE AGENTS OF BACTERIAL CYSTITIS AND THEIR ANTIBIOTIC SENSITIVITY

Absalyamov A.R. (student of the 6th course)

Kabardino-Balkarian State University, Nalchik, Russia

Цель работы – определить спектр основных возбудителей бактериального цистита и их чувствительность к основным антибиотикам, применяемым в настоящее время.

Материалы и методы. Обследовано 64 больных с циститом (34 женщин, 30 мужчин) в возрасте от 27-56 лет. Биологическим матери-

алом для проведения микробиологических методов исследования была моча больных с циститом. Посев мочи проводили на элективные питательные среды – желточно-солевой агар, кровяной агар, агар Шедлера. Идентификацию выделенных штаммов осуществляли на основании комплекса морфологических, культуральных и биохимических признаков. Для учёта количества микроорганизмов, выросших на плотной питательной среде, использовали подсчет колониеобразующих единиц (КОЕ) в разных секторах. Антибиотикоустойчивость бактерий определяли с помощью бумажных дисков к следующим антибактериальным препаратам: ампициллину, цефазолину, цефуроксиму, цефотаксиму, цефтазидиму, ципрофлоксацину, доксициклину. Статистическую обработку выполняли стандартными методами.

Результаты. Штаммы *E. coli* выделили у 38 (59,4%) пациентов. Обнаружили, что кишечная палочка высокочувствительна к цефазолину, цефуроксиму, цефотаксиму, цефтазидиму, ципрофлоксацину. У 16 больных выявили *S. aureus* 16 (25%), штаммы стафилококков были резистентны к ампициллину, доксициклину, высокочувствительны к цефотаксиму, цефтазидиму, ципрофлоксацину. *Streptococcus faecalis* отмечали у 6 (9,4%) пациентов, штаммы стрептококка были резистентны к ампициллину, доксициклину; высокочувствительны к цефотаксиму, цефтазидиму, ципрофлоксацину. Синегнойную палочку *Pseudomonas aeruginosa* наблюдали у 4 (6,2%) больных, резистентную к ампициллину, доксициклину, цефазолину, цефуроксиму, цефотаксиму и высокочувствительную к цефтазидиму, ципрофлоксацину.

Заключение. Ведущими возбудителями бактериальных циститов является кишечная палочка и золотистый стафилококк. Выявили чувствительность выделенных штаммов к препаратам цефалоспоринов.

Purpose of the work is to determine the range of the main causative agents of bacterial cystitis and their susceptibility to the basic antibiotics used nowadays.

Materials and methods. 64 patients aged 27-56 years have been inspected (34 women, 30 men). Urine of patients with cystitis was the biological material for microbiological methods of research. Urine culture was performed on elective nutrient media – vitelline-salt agar, blood agar, Schaedler agar. Identification of received strains was implemented under complex of morphological, cultural and biochemical characteristics. To account the number of microorganisms grown on solid medium counting colony forming units (CFU) in various sectors were used. Antibiotic sensitivity of bacteria was determined by paper disc with the following antibacterials: ampicillin, cefazolin, cefuroxime, cefotaxime, ceftazidime, ciprofloxacin, doxycycline. Statistical processing was performed by standard methods.

Results. *E. coli* strains were identified in 38 (59.4%) patients. It was found that *E. coli* is highly susceptible to cefazolin, cefuroxime, cefotaxime, ceftazidime, ciprofloxacin. *S. aureus* was found in 16 patients (25%), staphylococci strains were resistant to ampicillin, doxycycline and highly sensitive to cefotaxime, ceftazidime, ciprofloxacin. *Streptococcus faecalis* was observed in 6 (9.4%) patients, streptococcal strains were resistant to ampicillin, doxycycline and highly susceptible to cefotaxime, ceftazidime, ciprofloxacin. *Pseudomonas aeruginosa* was found in 4 (6.2%) patients, resistant to ampicillin, doxycycline, cefazolin, cefuroxime, cefotaxime and highly susceptible to ceftazidime, ciprofloxacin.

Conclusion. Leading pathogens of bacterial cystitis are *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. It was determined that strains were susceptible to cephalosporins.

РОЛЬ *STAPHYLOCOCCUS WARNERI* В ФОРМИРОВАНИИ МИКРОБОЦЕНОЗА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ МИНДАЛИН

Азнабаева Л.М.

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН; Оренбургский государственный медицинский университет МЗ РФ, Оренбург, Россия

THE ROLE OF *STAPHYLOCOCCUS WARNERI* IN THE FORMATION OF MICROBIOCENOSIS ON THE TONSILS MUCOUS MEMBRANE

Aznabaeva L.M.

Institute of cellular and intracellular symbiosis of URO RAS; Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia

Цель – изучение распространенности и роли *Staphylococcus warneri* в формировании микроценоза слизистой оболочки миндалин здоровых пациентов при хроническом тонзиллите.

Материалы и методы. Обследовано 50 больных хроническим компенсированным тонзиллитом в стадии ремиссии и 32 здоровых человека. Выделение и идентификацию штаммов микроорганизмов проводили на основе тинкториальных и биохимических свойств общепринятыми методами. Изучали гемолитическую (ГА), лизоцимную (ЛА) и антилизоцимную (АЛА) активности и ростовые показатели в условиях межмикробных взаимодействий бактерий-ассоциантов.

Результаты. Среди выделенных 455 штаммов микроорганизмов, 35 – идентифицировали как *S. warneri*, которые в 2,9 раза чаще выделяли со слизистой оболочки миндалин больных ($p < 0,05$), при этом показатели микробной обсемененности биотопов составляли $7,2 \lg$ КОЕ/тампон. В патогенозах наиболее частыми были ассоциации *S. warneri* - *S. aureus* (38,5±9,5%), *S. warneri* - *S. epidermidis* (23,0±8,2%), *S. warneri* - *S. haemolyticus* (26,9±8,7%), *S. warneri* - *Streptococcus mutans* (19,2±7,7%), *S. warneri* - *S. intermedius* (23,0±8,7%), тогда как в биоценозах здоровых людей ассоциаций *S. warneri* - *S. aureus*, *S. warneri* - *S. epidermidis*, *S. warneri* - *S. haemolyticus* не встречали, а ассоциации *S. warneri* - *S. mutans* и *S. warneri* - *S. intermedius* обнаруживали в 33,3±15,7% случаев. Таким образом, штаммы *S. warneri* чаще выделяли из биотопов, в которых присутствовали возбудители гнойно-воспалительных заболеваний, кариеса и эндокардита. Штаммы *S. warneri*, выделенные от больных, в 2,1 раза чаще снижали ГА ассоциантов ($p < 0,05$), тогда как на продукцию ЛА и АЛА ассоциантов отмечали разнонаправленное модифицирующее действие в сходном проценте случаев (26,7±9,5% стимулирующих воздействий и 30,1±9,7% – подавляющих). 84,6±7,1% штаммов *S. warneri*, выделенных из патогенозов, и 77,8±13,8% штаммов *S. warneri*, изолированных из нормоценозов, подавляли рост бактерий-ассоциантов, что можно объяснить способностью *S. warneri* синтезировать низкомолекулярные катионные пептиды из группы лантибиотиков.

Заключение. Полученные данные о распространенности и особенностях межмикробных взаимодействий бактерий *S. warneri* дают возможность характеризовать их как представителей нормальной микрофлоры слизистой оболочки миндалин, способных регулировать рост и проявление факторов патогенности возбудителей инфекционного процесса и, тем самым, поддерживать стабильность микроценоза.

АНТИЛИЗОЦИМНАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ – ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОТИТОВ У СОБАК

¹Акжигитов А.С., ²Пашкова Т.М., ^{1,2}Карташова О.Л.

¹Оренбургский государственный аграрный университет; ²Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза, Оренбург, Россия

ANTILYSOZYME ACTIVITY OF MICROORGANISMS – OTITIS AGENTS IN DOGS

¹Akzhigitov A.S., ²Pashkova T.M., ^{1,2}Kartashova O.L.

¹Orenburg state agricultural university; ²Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg, Russia

Цель – изучить выраженность антилизоцимной активности микроорганизмов – возбудителей отитов у собак.

Материалы и методы. Изучен 21 штамм *Mallassezia pachyderma-*

tis, 2 штамма *M. furfur*, 1 штамм *M. obtusa* и 46 штаммов бактерий, выделенных из наружного слухового прохода собак. Идентификацию грибов осуществляли согласно рекомендациям Mason I.S. (1996), бактерий – с помощью тест-систем «Lachema» (Чехия). Антилизоцимную активность (АЛА) микроорганизмов определяли по О.В. Бухарину с соавт. (1999).

Результаты. У собак с хроническим отитом в монокультуре в 10% случаев выделяли *M. pachydermatis*, в 40% – в ассоциации с *Staphylococcus* spp., в 10% – со *Staphylococcus xylosum* и *Klebsiella oxytoca*, в 10% – с *Staphylococcus hyicus* и *Corynebacterium* spp., в 10% – *M. obtusa* выявляли с *S. hyicus* и *Corynebacterium* spp., и в 20% – возбудителями были *P. aeruginosa*, *Klebsiella terrigena*, *S. xylosum*. АЛА *M. pachydermatis* в монокультуре и в ассоциации со *Staphylococcus* spp. составляла $2,1 \pm 0,07$ мкг/мл*ОП (оптическая плотность), в ассоциации с *S. xylosum* + *K. oxytoca* и *S. hyicus* + *Corynebacterium* spp. – $1,8 \pm 0,06$ мкг/мл*ОП. АЛА *M. obtusa* в ассоциации с *S. hyicus* + *Corynebacterium* spp. – $1,7$ мкг/мл*ОП; АЛА бактерий (*P. aeruginosa*) в монокультуре – $1,1$ мкг/мл*ОП, а в ассоциации с грибами – $0,6 \pm 0,09$ мкг/мл*ОП. У собак с острым отитом в 15,6% случаев *M. pachydermatis* наблюдали в монокультуре, в 18,8% – в ассоциации со *Staphylococcus* spp., в 3,1% – с *P. vulgaris*, в 6,3% – с *Staphylococcus* spp. и *Enterobacteriaceae* spp. *M. furfur* в 3,1% случаев отмечали в монокультуре, в 3,1% – в ассоциации с *Streptococcus* spp. и *Corynebacterium* spp., в 50% случаев возбудителями были *Staphylococcus* spp., *Enterobacteriaceae* spp., *Enterococcus* spp. АЛА *Malassezia* spp. в монокультуре составила $2,0 \pm 0,06$ мкг/мл*ОП, а в ассоциации с бактериями – $2,2 \pm 0,04$ мкг/мл*ОП. АЛА *S. hyicus*, *S. xylosum* и *P. aeruginosa* в монокультуре, в среднем, была $0,5 \pm 0,07$ мкг/мл*ОП, а в ассоциациях с грибами – $0,7 \pm 0,08$ мкг/мл*ОП.

Заключение. Для острого воспалительного процесса характерно повышение АЛА грибов рода *Malassezia* и условно-патогенных бактерий в условиях различных ассоциаций.

The aim was to study the presence of antilysozyme activity of microorganisms which cause the otitis in dogs.

Materials and methods. 21 strains of *Mallassezia pachydermatis*, 2 strains of *M. furfur*, 1 strain of *M. obtusa* and 46 strains of bacteria isolated from the external auditory meatus of dogs were studied. The identification of fungi was carried out according to the Mason I.S. recommendations (1996), of bacteria – with the help of “Lachema” test systems (Czechia). Antilysozyme activity (ALA) of microorganisms was determined according to O.V. Bukharin et al. (1999).

Results. In the case of dogs with chronic otitis in monoculture in 10% of cases *M. pachydermatis* was isolated, in 40% – in association with *Staphylococcus* spp., 10% – with *Staphylococcus xylosum* and *Klebsiella oxytoca*, 10% – with *Staphylococcus hyicus* and *Corynebacterium* spp., in 10% *M. obtusa* was discovered with *S. hyicus* and *Corynebacterium* spp., and in 20% – the causative agents *P. aeruginosa*, *Klebsiella terrigena*, *S. xylosum*. ALA of *M. pachydermatis* in pure culture and in association with *Staphylococcus* spp. was $2,1 \pm 0,07 \mu\text{g/ml}^*\text{OD}$ (optical density), in association with *S. xylosum* + *K. oxytoca* and *S. hyicus* + *Corynebacterium* spp. – $1,8 \pm 0,06 \mu\text{g/ml}^*\text{OD}$. ALA of *M. obtusa* in association with *S. hyicus* + *Corynebacterium* spp. was $1,7 \mu\text{g/ml}^*\text{OD}$; ALA of bacteria (*P. aeruginosa*) in monoculture – $1,1 \mu\text{g/ml}^*\text{OD}$, and in association with fungi – $0,6 \pm 0,09 \mu\text{g/ml}^*\text{OD}$. In the case of dogs with acute otitis *M. pachydermatis* was observed in monoculture in 15,6% of cases, 18,8% – in association with *Staphylococcus* spp., in 3,1% – with *P. vulgaris*, in 6,3% – with *Staphylococcus* spp. and *Enterobacteriaceae* spp. *M. furfur* was noted in 3.1% of cases in pure culture, 3,1% – in association with *Streptococcus* spp., and *Corynebacterium* spp., in 50% of cases *Staphylococcus* spp., *Enterobacteriaceae* spp., *Enterococcus* spp. were the causative agents. The ALA of *Malassezia* spp. in monoculture amounted $2,0 \pm 0,06 \mu\text{g/ml}^*\text{OD}$, and at the same time in association with the bacteria – $2,2 \pm 0,04 \mu\text{g/ml}^*\text{OD}$. ALA of *S. hyicus*, *S. xylosum* and *P. aeruginosa* in monoculture, on average, was $0,5 \pm 0,07 \mu\text{g/ml}^*\text{OD}$, and in associations with fungi it was $0,7 \pm 0,08 \mu\text{g/ml}^*\text{OD}$.

Conclusion. In a case of acute inflammatory process an increase of ALA in fungi of *Malassezia* genus and in opportunistic bacteria under the conditions of various associations is a characteristic feature.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФРАКЦИЙ МЕТАБОЛИТОВ *ENTEROCOCCUS FAECIUM* НА АДГЕЗИВНУЮ СПОСОБНОСТЬ *CANDIDA ALBICANS*

Александрова Н.А.¹, Заславская М.И.¹, Суворов А.Н.²

¹Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород; ²НИИ экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

INFLUENCE OF *ENTEROCOCCUS FAECIUM* METABOLITES FROM VARIOUS FRACTIONS ON *CANDIDA ALBICANS* ADHESIVE CAPACITY

Alexandrova N.A.¹, Zaslavskaja M.I.¹, Suvorov A.N.²

¹Nizhny Novgorod Medical State Academy, Nizhny Novgorod; ²Research Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia

Адгезия и колонизация *Candida albicans* на мукозальных эпителиоцитах является обязательным этапом развития кандидоза слизистых оболочек. На взаимоотношения *Candida* с эпителиоцитами могут оказывать влияние различные факторы, в том числе – продукты жизнедеятельности нормальной микрофлоры.

Цель – исследование способности разных фракций метаболитов *Enterococcus faecium* (менее 30кДа, 10кДа или 3кДа) влиять на процесс адгезии *C. albicans* к букальным эпителиоцитам *in vitro*.

Материалы и методы. Культуру *E. faecium* штамм L-3 выращивали на триптиказо-соевом бульоне (ТСБ) – 24 ч, 37 °С. После культивирования супернатант отделяли от бактериальных клеток и подвергали фильтрации (6000 г, 40 мин) в пробирках со встроенным микрофильтром (Amicon Ultra-15, Germany) и с диаметром пор 30 кДа, 10 кДа и 3 кДа. Культуру *C. albicans* штамм 601 в дрожжевой фазе получали на агаре Сабуро (24 ч, 37 °С). Суспензию *C. albicans* в концентрации 10⁷ кл/мл смешивали в равных объемах с одной из фракций супернатанта и инкубировали (30 мин, 37 °С). В контрольных пробах (вместо супернатанта) использовали стерильный ТСБ. Букальные эпителиоциты получали от здоровых доноров (10⁶ кл/мл). Равные объемы суспензии эпителиоцитов и *C. albicans* инкубировали (30 мин, 37 °С) в забуференном физиологическом растворе (ЗФР). Затем эпителиоциты отмывали ЗФР от неприкрепившихся *Candida* (40 г, 5 мин), из осадка клеток готовили мазок, определяли среднее количество грибов в пересчете на один эпителиоцит (учитывали 100 клеток).

Результаты. Обработка *C. albicans* метаболитами *E. faecium* с размером молекул менее 3кДа не оказывала существенного влияния на адгезию микромицетов. Продукты метаболизма энтерококков из фракций до 10кДа и 30кДа обладали антиадгезивным эффектом, снижая показатель искусственной колонизации *C. albicans* на эпителиоцитах в 1,38 раз и 1,34 раза соответственно (p<0,05). При этом удаление нековалентно связанных компонентов с помощью 0,1% раствора додецилсульфата натрия не отменяло антиадгезивный эффект.

Заключение. Таким образом, было установлено, что максимальная концентрация продуктов метаболизма *E. faecium*, способных обратимо снижать способность *C. albicans* закрепляться на эпителиоцитах, состоит преимущественно из молекул с массой 3-10 кДа.

Adhesion and colonization of *Candida albicans* on the mucosal epithelial cells is an obligatory stage of mucosal candidiasis development. Various factors, including the normal microbiota metabolites can influence on the interaction of *Candida* with epithelial cells.

Purpose – to investigate the influence of *Enterococcus faecium* metabolites from various fractions (below 30kDa, 10kDa, or 3kDa) on *C. albicans* adhesion to buccal epithelial cells *in vitro*.

Materials and methods. *E. faecium* strain L-3 was grown in tryptone-soya-broth (TSB) during 24 h at 37°C. Supernatant was separated from the bacterial cells by filtration (6000 g, 40 min) in tubes with integrated microfilter 30 kD, 10 kD, or 3 kD (Amicon Ultra-15, Germany). Yeast phase of *C. albicans* strain 601 was obtained on Sabouraud agar (24 h, 37°C). Equal volumes of *C. albicans* suspension (10⁷ cells/ml) and any fraction of enterococcal supernatant were mixed and incubated (30 min, 37°C). Sterile TSB (instead of the supernatant) was used as the control. Buccal epithelial cells (10⁶ cells/ml) were obtained from healthy donors. Equal volumes of the epithelial cell suspension and *C. albicans* were co-incubated (30 min, 37°C) in phosphate buffered saline (PBS). Then epithelial cells were washed from not attached *Candida* (40g, 5 min) with PBS. The smear was prepared from the cell sediment and the average

amount of *Candida* cells per one epitheliocyte (considered 100 buccal cells) was calculated.

Results. Treatment of *C. albicans* by *E. faecium* metabolites with molecules below 3kDa had no significant effect on the fungal adhesion. The metabolites of enterococci below 10kDa and 30kDa had an antiadhesive effect and reduced the rate of *C. albicans* artificial colonization on epithelial cells in 1.38 times and 1.34 times respectively (p<0,05). Removing of non-covalently bound components with 0.1% sodium dodecyl sulfate did not change the antiadhesive effect.

Conclusion. Thus, it was founded that *E. faecium* metabolites consisting mainly of molecules with weight 3-10 kDa can irreversibly reduce adhesion of *C. albicans* to epithelial cells.

ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ У ЛЮДЕЙ С ОСТРЫМИ КИШЕЧНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ

Алешукина А.В.¹, Бусленко А.О.², Пшеничная Н.Ю.², Алешукина И.С.¹, Костенко О.Д.¹

¹Ростовский НИИ микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора; ²Ростовский государственный медицинский университет МЗ РФ, Ростов-на-Дону Россия

CITOKIN'S PROFILE AT PEOPLE WITH ACUTE INTESTINAL INFECTIONS

Aleshukina A.V.¹, Buslenko A.O.², Pshenichnaya N.Yu.², Aleshukina I.S.¹, Kostenko O.D.¹

¹Rostov Scientific Research Institute of Microbiology and Parasitology of Rosпотребнадзор; ²Rostov State Medical University MH RF, Rostov-on-Don, Russia

Цель работы – изучить цитокиновый профиль в кишечнике у пациентов с острыми кишечными инфекциями (ОКИ), вызванными условно-патогенными микроорганизмами.

Материалы и методы. Изучали материал от 50 взрослых людей, находящихся на стационарном лечении в инфекционном отделении МБУЗ «Городская больница №1 им. Н.А.Семашко» г. Ростова-на-Дону. Взятие материала из прямой кишки проводили стерильными тампонами в день поступления пациентов в стационар с последующим погружением тампонов в изотонический раствор натрия хлорида. Посев осуществляли на дифференциально-диагностические среды Эндо, Плоскирев-агар, желточно-солевую среду, кровяной агар, среду Сабуро («Микроген, Махачкала»). Выросшие колонии микроорганизмов идентифицировали по культуральным, тинкториальным, морфологическим, биохимическим признакам. Окончательное биотипирование проводили масс-спектрометрическим методом (Bruker Daltonik MALDI Biotyper). Смыв с тампона использовали для определения уровня цитокинов: интерлейкинов 1-β; 4, 6, 10, фактора некроза опухоли, интерферона-γ и прокальцитонина (ИЛ-1β, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ФНО-α, ИНФ-γ, ПКТ) с применением коммерческих наборов «Вектор-бест» (Новосибирск).

Результаты. Были выделены: энтеропатогенная кишечная палочка (40%), гемолизирующие эпидермальные стафилококки (35%), золотистые стафилококки (20%), гемолизирующие стрептококки (20%), клебсиеллы (35%), цитробактеры (25%), *Candida* spp. (20%). В 90% случаев у больных с ОКИ регистрировали ассоциации условно-патогенных микроорганизмов.

При анализе уровня цитокинов выявили, что провоспалительные цитокины в острой фазе заболевания были повышены: ИЛ-1 β – в 60,4%; ИЛ-6 – в 65%; ИНФ-γ – в 46,8%. Противовоспалительные цитокины в то же время обнаружили в высоких количествах: ИЛ-4 – 69%, ИЛ-10 – 70%, ПКТ – 4,5%; ФНО-α в 100% был низким.

Заключение. У людей с ассоциированными ОКИ, обусловленными условно-патогенными микроорганизмами, отмечали синхронное повышение провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, кроме ФНО-α и ПКТ. Изучаются изменения цитокинового профиля в кишечнике при ОКИ после лечения разными антибактериальными и иммуномодулирующими препаратами.

АДГЕЗИВНАЯ АКТИВНОСТЬ *CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE*

Алиева А.А., Харсеева Г.Г., Алексеева Л.П., Лабушкина А.В., Воронина Н.А.

Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия

ADHESIVE ACTIVITY OF *CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE*

Alieva A.A., Kharseeva G.G., Alekseeva L.P., Labushkina A.V., Voronina N.A.

Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

Цель – определение адгезивной активности штаммов *Corynebacterium diphtheriae gravis tox**.

Методы и средства. Адгезивные свойства штаммов *C. diphtheriae gravis tox** SV-665, *C. diphtheriae gravis tox** №6765 и *C. diphtheriae gravis tox**, выделенного от больного дифтерией (ФГУ «1002 центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора Северо-Кавказского военного округа», Ростов-на-Дону) определяли на трипсинизированной культуре клеток карциномы гортани человека Hep-2 в полистироловых планшетах с дисками 12,0-0,11 мм (фирма SPL Coverslips) и в реакции геммагглютинации с эритроцитами человека I(0) группы крови методом полуколичественного титрования. Учет количества адгезированных коринебактерий на культуре клеток Hep-2 производили путем высева на 20% сывороточный агар с последующим подсчетом КОЕ.

Результаты. Все исследованные штаммы возбудителя *C. diphtheriae* не проявляли геммагглютинирующей активности с эритроцитами I(0) группы крови человека. Однако при исследовании адгезивных свойств токсигенных коринебактерий на культуре клеток Hep-2 получили иные результаты. Наиболее высокой адгезивной активностью ($p \leq 0,05$), при контакте коринебактерий с клетками фарингального эпителия в течение 2 часов, обладал штамм *C. diphtheriae gravis tox+*, выделенный от больного ($25,7 \pm 0,9$ КОЕ). Из музейных штаммов показатель адгезивной активности был выше ($p \leq 0,05$) у штамма *C. diphtheriae gravis tox+* SV-665 ($13 \pm 0,6$ КОЕ), чем у штамма *C. diphtheriae gravis tox+* №6765 ($3,3 \pm 0,3$ КОЕ). При экспозиции 8 часов адгезивная активность штаммов *C. diphtheriae* ($p \leq 0,05$) значительно возросла (в 150-200 раз), но соотношение между уровнем адгезивной активности каждого из исследованных штаммов сохранилось.

Выводы. Определение адгезивной активности возбудителя дифтерии на культуре клеток Hep-2 более информативно, чем в реакции геммагглютинации. Адгезивная активность у циркулирующего штамма *C. diphtheriae gravis tox+* наиболее выражена по сравнению с музейными штаммами.

Purpose: to determine the adhesive activity of *Corynebacterium diphtheriae gravis tox** strains.

Materials and methods. Adhesive properties of *C. diphtheriae gravis tox** SV-665, *C. diphtheriae gravis tox** No. 6765, and *C. diphtheriae gravis tox** strains isolated from a diphtheria patient (Federal Sanitary and Epidemiologic Supervision Center 1002 of the North Caucasus Military District, Rostov-on-Don) were determined using a trypsinized culture of human laryngeal carcinoma Hep-2 cells in polystyrene plates with 12,0-0,11 mm SPL Coverslips and in hemagglutination with I(0) human blood cells using semi-quantitative titration. The quantity of attached corynebacteria on the Hep-2 cell culture was estimated by seeding on 20% serum agar with subsequent CFU count.

Results. All examined strains of *C. diphtheriae* agent demonstrated no hemagglutination activity with I(0) human erythrocytes. However, different results were obtained while studying adhesive properties of toxigenic corynebacteria on the Hep-2 cell culture. The highest adhesive activity ($p \leq 0,05$) during 2-hour contact of corynebacteria with the pharyngeal epithelium cells was demonstrated by the *C. diphtheriae gravis tox+* strain isolated from a patient ($25,7 \pm 0,9$ CFU). Among the established strains, adhesive activity ($p \leq 0,05$) demonstrated by the *C. diphtheriae gravis tox+* SV-665 ($13 \pm 0,6$ CFU) strain was higher than that of *C. diphtheriae gravis tox+* No.6765 ($3,3 \pm 0,3$ CFU). During 8-hour exposure, adhesive activity of *C. diphtheriae* strains ($p \leq 0,05$) increased considerably (150-200 times), but the ratio between the levels of adhesive activity of each studied strain was preserved.

Conclusions. Detection of adhesive activity of diphtheria causative agent on a Hep-2 cell culture is more informative than in hemagglutination.

Adhesive activity of circulating *C. diphtheriae gravis tox+* strain is more prominent compared with established strains.

ВЫЯВЛЕНИЕ НЕТУБЕРКУЛЕЗНЫХ МИКОБАКТЕРИЙ В СИБИРСКОМ РЕГИОНЕ

Альховик О.И.¹, Дымова М.А.²

¹Новосибирский НИИ туберкулёза МЗ РФ; ²Институт Химической Биологии и Фундаментальной Медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

DETECTION OF NONTUBERCULOUS MYCOBACTERIA IN SIBERIAN REGION

Alkhovik O.I.¹ Dymova M.A.²

¹Novosibirsk TB Research Institute; ²Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

Цель исследования – выявить распространенность видов нетуберкулезных микобактерий, выделенных от пациентов противотуберкулезных учреждений Сибирского Федерального округа.

Материалы и методы. Изучали изоляты нетуберкулезных микобактерий (НТМБ), выделенные от пациентов противотуберкулезных учреждений, культуральным методом и методом ПЦР-гибридизации на стрип-полосках.

Результаты. В молекулярно-биологической лаборатории ФГБУ «ННИИТ» МЗ РФ в период 2013-2014 гг. было генотипировано 73 изолята НТМБ, выделенных от пациентов противотуберкулезных учреждений Новосибирской, Кемеровской областей, Алтайского края и Республики Саха. Видовой состав характеризовался следующим образом: *Mycobacterium peregrinum* – 5 изолятов, *M. fortuitum* – 22, *M. gordonae* – 6, *M. intracellulare* – 4, *M. abscessus* – 25, *M. kansasii* – 4, *M. avium* – 7. Таким образом, в Сибирском регионе чаще выявляют быстрорастущие виды НТМБ.

Вывод. Для диагностики микобактериозов недостаточно только охарактеризовать вид выделенного микроорганизма, необходимо оценить его этиологическую значимость. Это выполнимо в условиях оснащения бактериологических лабораторий современным оборудованием и расходными материалами и укомплектованности квалифицированными кадрами. Важным является также создание общей базы штаммов с известными генотипами, биохимическими и культуральными свойствами, а также и обмен информацией между противотуберкулезными учреждениями зоны курации института.

Purpose of study – To determine occurrence of Nontuberculous Mycobacteria strains isolated from TB hospital patients in Siberian Federal District.

Materials and methods. We studied Nontuberculous Mycobacteria strains (NTM) isolated from TB hospital patients used cultural method and method of DNA hybridization on strips.

Results. In molecular-biology laboratory of Novosibirsk TB Research Institute in the period 2013-2014 years 73 NTM strains were genotyped, these strains were isolated from TB hospital patients of Novosibirsk, Kemerovo, Altay regions and from Sakha Republic. Species composition was characterized as follows: *Mycobacterium peregrinum* – 5 strains, *M. fortuitum* – 22, *M. gordonae* – 6, *M. intracellulare* – 4, *M. abscessus* – 25, *M. kansasii* – 4, *M. avium* – 7. Thus, in Siberian Region fast growing NTM strains were identified more often.

Conclusion. For the diagnosis of mycobacteriosis it is not enough to describe the type of isolated microorganism, it is necessary to evaluate its etiological significance. This is feasible in the presence of modern equipment and supplies in bacteriological laboratories and staffing with qualified personnel. It is also important to create a common database of strains with known genotypes, biochemical and cultural characteristics, as well as the exchange of information between TB agencies of Novosibirsk TB Research Institute Supervision zones.

СТРАТЕГИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

Андреева И.А., Смотровая Н.Г.

Днепропетровская медицинская академия МОЗ Украины,
Днепропетровск, Украина

THE STRATEGY OF USE OF ANTIBACTERIAL DRUGS AT THE PRESENT STAGE

Andreeva I.A., Smotrova N.G.

Dnipropetrovsk Medical Academy, Dnipropetrovsk, Ukraine

На современном этапе развития медицинской отрасли международными научными и профессиональными медицинскими сообществами и организациями рекомендована практика разработки и внедрения в систему оказания медицинской помощи населению принципов доказательной медицины. В частности, это касается использования антибактериальных средств для лечения пациентов с разными патологиями и состоит в переходе от эмпирического назначения антибиотиков к научно обоснованному, базирующемуся на результатах микробиологического мониторинга с использованием компьютерной программы WHONET.

Цель работы – внедрение рациональной стратегии и тактики использования антимикробных препаратов в работу Днепропетровской детской клинической больницы № 3 им. проф. М.Ф. Руднева. Изучение и анализ антибиотикорезистентности микроорганизмов проводили за период 2010-2014 гг. С помощью WHONET в стационаре была создана компьютерная база данных, в которой хранится информация об отделениях в целом, о каждом пациенте, исследованном материале, дате его выделения, данные о выделенном микроорганизме и его чувствительность/резистентность к антимикробным препаратам. Всего были проанализированы данные о более чем 6000 изолятах.

Результаты. По суммарным данным, выделенные штаммы принадлежали к широкому спектру микроорганизмов (свыше 40 разных видов). С помощью анализа выделения клинически значимых микроорганизмов установили, что наиболее часто из биологического материала выделяли *Escherichia coli* (1-20%), *Klebsiella pneumoniae* (4-18%), *Staphylococcus epidermidis* (1-12%), *S. aureus* (1-10%), *Enterobacter cloacae* (2-9%), *Pseudomonas aeruginosa* (1-8%). Обнаружение других микроорганизмов было нерегулярным, и его частота колебалась от 0% до 10%. В результате изучения чувствительности микроорганизмов показано, что исследуемые штаммы бактерий были резистентными, в среднем, к 72,7% антибиотиков, которые применяли к тестированию. В частности, стойкость к ампициллину, цефтриаксону, цефтазидиму, гентамицину была высокой и достигала 100%. После запрета на использование указанных препаратов в динамике, наблюдали тенденцию к появлению у циркулирующих штаммов микроорганизмов чувствительности к цефтриаксону, гентамицину и ампициллину.

Заключение. Повышение качества медицинской помощи возможно путем внедрения в практику учреждений охраны здоровья стратегии контролируемого применения антибиотиков на основании результатов микробиологического мониторинга с использованием аналитической программы WHONET.

ПРОБЛЕМА ПОЛИАНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Андреева И.Д., Осолодченко Т.П., Лукьяненко Т.В., Завада Н.П.

Институт микробиологии и иммунологии им. И. И. Мечникова
Национальной академии медицинских наук Украины, Харьков, Украина

THE PROBLEM OF POLYANTIBIOTIC RESISTANCE IN PATHOGENS OF OUT-HOSPITAL INFECTIONS

Andreeva I.D., Osolodchenko T.P., Lukyanenko T.V., Zavada N.P.

Mechnikov institute of microbiology and immunology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Цель – определение степени антибиотикорезистентности возбудителей внебольничных инфекций.

Материалы и методы. Изучено 213 штаммов микроорганизмов, выделенных у пациентов с внебольничными инфекциями. Матери-

алом для исследования были: содержимое гнойных очагов на коже (11,3%), слизь из зева и носа (34,7%), моча (17,9%), выделения из влагалища и из цервикального канала (17,5%), выделения из уретры (1,4%), выделения из глаз (4,2%), выделения из ушей (11,7%), гнойные выделения из послеоперационных ран (1,4%). Взятие клинического материала осуществляли до начала антибактериальной терапии. Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам проводили диско-диффузионным методом на среде Мюллера-Хинтона с использованием стандартных дисков. Полирезистентными считали изоляты, устойчивые к представителям трех или более классов антимикробных средств, экстенсивно резистентными – устойчивые ко всем, кроме одного или двух классов антибиотиков, и панрезистентными – устойчивые ко всем доступным классам антибиотиков.

Результаты. Наиболее часто выделяли *Escherichia coli* (25,3%), *Staphylococcus aureus* (24,4%) и *Candida albicans* (16,4%), реже – *Streptococcus pyogenes* (6,7%), *Enterobacter cloacae* (6,7%), *Pseudomonas aeruginosa* (5,6%), *Staphylococcus epidermidis* (3,6%), *Microsporum* sp. (3,3%) и *Streptococcus agalactia* (3,2%), *Enterococcus faecalis* (1,9%), *Proteus mirabilis* (1,9%), *Aspergillus niger* (0,9%). Полирезистентными оказались 30,5% всех изученных внебольничных изолятов, в том числе – 58,3% штаммов *P. aeruginosa*, 44,4% штаммов микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae* и 43,3% – *Staphylococcus* spp. Экстенсивной резистентностью обладали 3,8% *S. aureus*, сохраняя чувствительность к аминогликозидам и гликопептидам, 25,0% *P. aeruginosa*, оставаясь чувствительными к монобактамам и карбапенемам, и 1,4% *E. coli*, сохраняя чувствительность к нитрофуранам и фосфомицину.

Выводы. Значительная часть циркулирующих во внебольничных условиях штаммов микроорганизмов обладают полиантибиотикорезистентностью, что необходимо учитывать при выборе схем антибактериального лечения.

ПРОТИВОМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО ТИОНОВ ПИРИДО[4',3':5,6] ПИРАНО[2,3-D]ПИРИМИДИНА

Андреева И.Д., Щербак О.Н.

Институт микробиологии и иммунологии им. И. И. Мечникова
Национальной академии медицинских наук Украины, Харьков,
Украина

THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE NEW TION DERIVATIVE OF PIRIDO[4',3':5,6]PIRANO[2,3-D] PYRIMIDINE

Andreeva I.D., Shcherbak O.N.

I.I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Цель – исследование антибактериальной и противогрибковой активности нового производного тионов пиридо[4',3':5,6]пирано[2,3-d]пиримидина.

Материалы и методы. Изучали действие нового соединения 6-гидроксиметил-1,2-диарил-9-метил-1,3,4,5-тетрагидро-2Н-пиридо[4',3':5,6]пирано-[2,3-d]пиримидин-4-тиона в отношении 55 музейных и клинических штаммов микроорганизмов следующих родов: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Yersinia*, *Rahnella*, *Candida*, *Trichophyton*, *Epidermophyton* и *Aspergillus*. Исследование антибактериальной активности проводили стандартным методом серийных разведений в питательном бульоне с последующими высевами на твердую питательную среду (агар Мюллера-Хинтона). Противогрибковую активность нового вещества определяли методом серийных разведений в агаровой среде Сабуро. В качестве препаратов сравнения использовали субстанции триметоприма, гексетидина и флуконазола.

Результаты. Новое соединение обладает достаточно высокой *in vitro* активностью против *Bacillus* spp., *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* и микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae* с показателями минимальных ингибирующих концентраций в пределах 15,6-31,2 мкг/мл ($p < 0,05$ по сравнению с показателями триметоприма и гексетидина). Выявили высокую чувствительность грибов родов *Candida*, *Aspergillus*, *Trichophyton* и *Epidermophyton* к новому производному тионов в кон-

центрациях 3,9-31,2 мкг/мл ($p < 0,05$ в сравнении с гексетидином и флуконазолом). Проведенным структурным анализом показано, что высокая противомикробная активность данного вещества обусловлена наличием в составе молекулы двух арильных заместителей и атома серы в форме тиона.

Выводы. Установлен широкий спектр и достаточно высокий уровень *in vitro* активности нового производного тионов пиридо[4',3':5,6]пирано[2,3-*d*]пиримидина в отношении патогенов разных родов и видов, что определяет перспективы для создания на его основе новых антибактериальных и противогрибковых средств.

The aim of the study is to investigate the antibacterial and antifungal activity of the new thione pyrido[4',3':5,6]pyrano [2,3-*d*]pyrimidine derivative.

Material and methods. The activity of a new compound of 6-hydroxymethyl-1,2-diaryl-9-methyl-1,3,4,5-tetrahydro-2H-pyrido [4',3':5,6]pyrano-[2,3-*d*]pyrimidine-4-thione against 55 museum and clinical strains of microorganism of following genera: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Yersinia*, *Rahnella*, *Candida*, *Trichophyton*, *Epidermophyton* and *Aspergillus*. The study of antibacterial activity was carried out with the use of the serial dilutions standard method in the culture broth followed by the transfer to solid culture medium (Muller-Hinton agar). The antifungal activity of a new agent was defined by the serial dilutions methods in Sabouraud agar medium. Trimetoprim, hexethydyne and fluconazol substances were used for comparison.

Results. The new compound possesses sufficient activity *in vitro* against *Bacillus* spp., *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* and microorganisms of *Enterobacteriaceae* family with minimal inhibiting concentrations in the range of 15,6-31,2 µg/ml ($p < 0,05$ compared to trimetoprim and hexethydyne parameters). High susceptibility to a new thione derivative was shown for fungi of genera *Candida*, *Aspergillus*, *Trichophyton* and *Epidermophyton* in concentrations equal to 3,9-31,2 µg/ml ($p < 0,05$ compared to hexethydyne and fluconazol). The structure analysis has shown that the high antimicrobial activity of the studied compound is determined by the presence in the molecule of two aryl substitutes and sulphur atom in the thione form.

Conclusion. A wide spectre and sufficient level of *in vitro* activity of the new thione pyrido[4',3':5,6]pyrano [2,3-*d*]pyrimidine derivative against pathogens of different species and genera was established, which determines the perspectives for development new antibacterial and antifungal agents thereof.

СКРИНИНГ АЭРОЗОЛЕЙ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА ЗАПАДНОЙ СИБИРИ НА НАЛИЧИЕ САПРОФИТНЫХ И ПАТОГЕННЫХ ДРОЖЖЕЙ

Андреева И.С., Сафатов А.С., Соловьянова Н.А., Буряк Г.А., *Емельянова Е.К., Вечканов В.А., Селиванова М.А.

Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», р.п. Кольцово Новосибирской области; * Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск, Россия

SCREENING OF ATMOSPHERIC AEROSOLS OF WESTERN SIBERIA ON THE PRESENCE OF SAPROPHYTIC AND PATHOGENIC YEASTS

Andreeva I.S., Safatov A.S., Solovyanova N.A., Buryak G.A., *Emelyanova E.K., Vechkanov V.A., Selivanova M.A.

State Research Center of Virology and biotechnology «Vector», Koltsovo, Novosibirsk region; * Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

Биоаэрозоли атмосферы оказывают значительное влияние на состояние окружающей среды и здоровье населения, способны вызывать или провоцировать аллергические и инфекционные заболевания.

Цель работы – определение численности и разнообразия сапрофитных и патогенных дрожжей в атмосферных аэрозолях юга Западной Сибири.

Материалы и методы. При отборе образцов атмосферного воздуха использовали импинджеры, содержащие в качестве сорбирующей жидкости раствор Хенкса. Наземные пробы отбирали на площадках на территории ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» и в поселке Ключи Новосибирской области, высотные – над Караканским бором (правый берег р. Обь) на 8 высотах от 500 и до 7000 м с помощью лабо-

ратории «Оптик-Э» на базе самолета ТУ-154. Из импинджеров пробы аэрозолей высевали на селективные среды и инкубировали высебы при 28-30 °С и 6-10 °С в течение 20 суток. Идентификацию микробных изолятов проводили молекулярно-генетическими методами с определением фенотипических признаков.

Результаты. В образцах аэрозолей атмосферного воздуха, взятых на разных высотах, обнаружили жизнеспособные дрожжи и дрожжеподобные грибы родов *Bullera*, *Aureobasidium*, *Sporidiobolus*, *Sporobolomyces*, *Cryptococcus*, *Candida*, *Rhodotorula* и ряда других, среди которых известны патогенные и условно-патогенные штаммы, представляющие опасность для человека. Баллистоспоры, образуемые многими из них, способствуют их повсеместному распространению, включая атмосферу. Отметим, что в ряде образцов, вне зависимости от времени года, число холодолюбивых микроорганизмов, включая дрожжи, как правило, пигментированные, с оптимумом роста при 6-10 °С, было на 2-3 порядка больше концентрации изолированных из этих же образцов мезофилов, составляя численность для разных высот от $3,20 \cdot 10^2$ до $1,13 \cdot 10^5$ КОЕ/м³. В качестве возможных патогенных и аллергенных агентов в атмосферных аэрозолях выявили также плесневые грибы родов *Alternaria*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Mucor*, *Trichoderma*, *Fusarium* и *Aspergillus* с концентрацией от < 1 до $5 \cdot 10^3$ кл/мл пробы и актиномицеты, обладающие гемолитической активностью.

Atmosphere bioaerosols have a significant impact on the environment and human health and can cause or induce allergic and infectious diseases.

The purpose of the work was to determine the number and diversity of saprophytic and pathogenic yeasts in atmospheric aerosols of Southwestern Siberia.

Materials and methods. Impingers containing Hank's solution as absorbing liquid were used for air sampling. Surface samples were collected at the sites on the territory of FBUN SRC Vector and Klyuchi village in Novosibirsk region, while altitude samples were collected over the Karakan pine forest (the right bank of the Ob river) at 8 altitudes from 500 to 7000 m from the Optic-E laboratory based on a TU-154 airplane. Aerosol samples from impingers were plated onto selective media and incubated at 28-30°C and 6-10°C for 20 days. Microbial isolates were identified with molecular genetics methods including the determination of phenotypic traits.

Results. Viable yeasts and yeast-like fungi of the genera *Bullera*, *Aureobasidium*, *Sporidiobolus*, *Sporobolomyces*, *Cryptococcus*, *Candida*, *Rhodotorula* and some others, including pathogenic and conventionally pathogenic strains that are dangerous for humans were found in atmospheric aerosol samples collected at different altitudes. Ballistospores formed by many of them promote their widespread dissemination, in particular, in the atmosphere. It should be noted that in some samples, regardless the season, the number of psychrophilic microorganisms, including usually pigmented yeasts with the optimal growth at 6-10°C, was 2-3 orders of magnitude greater than the concentration of mesophyls isolated from the same samples and varied from $3,20 \cdot 10^2$ to $1,13 \cdot 10^5$ CFU/m³ at different altitudes. Possible pathogenic agents and allergens such as fungi of the genera *Alternaria*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Mucor*, *Trichoderma*, *Fusarium* and *Aspergillus* at the concentrations from < 1 to $5 \cdot 10^3$ cells/ml of the sample and actinomycetes possessing hemolytic activity were also found in atmospheric aerosols.

ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ ENTEROCOCCUS FAECALIS, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МОЧИ ДЕТЕЙ С ИНФЕКЦИЕЙ МОЧЕВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

Андреева Т.С.¹, Мельникова Е.А.², Зайцева Е.А.¹

¹Тихоокеанский государственный медицинский университет МЗ РФ; ²Краевая детская клиническая больница №1, Владивосток, Россия

PATHOGENICITY FACTORS OF ENTEROCOCCUS FAECALIS ISOLATED FROM URINE OF CHILDREN WITH URINARY TRACT INFECTION

Andreeva T.S.¹, Melnikova E.A.², Zaitseva E.A.¹

¹State Educational Institution higher education MH RF, Vladivostok; ²Regional Children's Clinical Hospital № 1, Vladivostok, Russia

Цель работы – изучение адгезивных свойств и факторов патогенности *Enterococcus faecalis*, выделенных из мочи детей с инфекцией мочевыделительной системы (ИМС).

Материалы и методы. Исследовали культуры *E. faecalis* (n = 22), полученные от детей с ИМС. Биологические свойства энтерококков изучали по общепринятым методам. Адгезивную способность определяли по методике В.И. Бриллис с соавторами (1986) на эритроцитах О (I) группы крови Rh (+).

Результаты. Все культуры *E. faecalis* обладали способностью взаимодействовать с эритроцитами человека. При оценке среднего показателя адгезии (СПА) у энтерококков выделили две группы. В первую группу вошли *E. faecalis* (n=10) со средним уровнем адгезии (СПА= 2,01 – 4,0). Эти культуры обладали протеолитической (12,5% энтерококков ферментировали желатин, 75,0% – молоко), лецитиназой (12,5%), липазной (75% культур ферментировали твин 20 и твин 80) активностями. Имели капсулу 37,5% энтерококков этой группы, у 35,7% *E. faecalis* определяли гемолитическую активность (α -типа).

Во вторую группу отнесли *E. faecalis* (n=12) с высоким показателем адгезии (СПА \geq 4,01). Энтерококки этой группы с большей частотой ферментировали желатин (50% культур) и молоко (91,7%), показали гемолитическую (β -типа) (58,3%), лецитиназную (50%) и липазную (91,7%) активности. 33,3% культур имели капсулу. Эти культуры *E. faecalis* были выделены в титре 10^3 - 10^5 КОЕ/мл у детей с инфекцией мочевыводящих путей, протекавшей на фоне пневмонии.

Заключение. *E. faecalis*, выделенных из мочи детей с урогенитальной патологией, с разной степенью адгезии показывают вариабельные фенотипические проявления факторов патогенности, что требует дальнейшего изучения.

Purpose - to study adhesive properties and pathogenicity factors of *Enterococcus faecalis* isolated from the urine of children with urinary tract infection (UTI).

Materials and methods. We investigated the *E. faecalis* (n=22) cultures obtained from children with UTI. Biological properties of enterococci were studied by conventional methods. Adhesive ability was determined by the V. I. Briilis et al. method (1986) on the erythrocytes of O (I) Rh (+) blood group.

Results. All *E. faecalis* cultures had the ability to interact with human erythrocytes. We identified two groups when estimating the enterococci average adhesion index (AAI). The first group included *E. faecalis* (n=10) with a mean level of adhesion (AAI=2,01 – 4,0). These cultures showed proteolytic (12,5% of enterococci fermented gelatin, 75% - milk), lecithinase (12,5%), lipase (75% of cultures fermented Twin-20 and Twin-80) activities. 37,5% of enterococci of that group had capsule, and 35,7% of *E. faecalis* had hemolytic activity (α -type).

The second group included *E. faecalis* (n=12) with a high level of adhesion (AAI \geq 4.01). The enterococci of that group fermented gelatin (50% of cultures) and milk (91,7%) more often, showed hemolytic (β -type) (58,3%), lecithinase (50%) and lipase (91,7%) activities, 33,3% of the cultures had capsule. These cultures of *E. faecalis* were isolated in titre 10^3 - 10^5 КОЕ/ml from children with urinary tract infection, simultaneously with pneumonia.

Conclusion. *E. faecalis* isolated from the urine of children with urogenital pathology indicate variable phenotypic manifestations of pathogenicity factors that require further investigation.

КАНДИДОЗНЫЕ ВУЛЬВОВАГИНИТЫ У ЖЕНЩИН В ПЕРИОД БЕРЕМЕННОСТИ

Арутюнян Н.С., Мкртчян А.А., Агафонов П.С.

ООО «Исида», Барнаул, Россия

CANDIDAL VULVOVAGINITIS IN WOMEN DURING PREGNANCY

Arutyunyan N.S., Mkrtychyan A.A., Agafonov P.S.

LLC «Jsis», Barnaul, Russia

Рост заболеваемости вульвовагинальным кандидозом связан с такими причинами, как длительное и бесконтрольное применение антибиотиков, кортикостероидов, высокодозированных контрацептивных препаратов, длительное ношение внутриматочной спирали, иммунодефицитные состояния, которые ведут к изменению нормальной микрофлоры влагалища и в последующем – к размножению грибов. Среди эндокринных заболеваний, способствующих появлению кандидозной инфекции, выделяют сахарный диабет. Беременность также повышает вероятность возникновения данного заболевания. Предрасполагающими факторами к развитию кандидозного вульвовагинита является также ношение тесной одежды, ожирение,

несоблюдение гигиенических условий, жаркий климат.

Цель – выяснение частоты встречаемости кандидозных поражений у беременных.

Материалы и методы. Обследованы 359 беременных женщин в возрасте 18-42 лет, которых мы разделили на 3 группы по триместрам. У пациенток брали мазки из цервикального канала, влагалища, уретры на определение биоты и чувствительности ее к противогрибковым препаратам, до и после лечения.

Результаты. До лечебных мероприятий в исследуемых мазках в 85% случаев наблюдали *Candida albicans*, в 10% – *C. glabrata* и в 5% – *C. tropicalis* и *C. krusei*.

В первом триместре беременности при кандидозном вульвовагините 59 пациенткам в возрасте 18-38 лет назначали Пимафуцин (на-тамицин 100 мг) вагинальные суппозитории №3. В контрольных мазках, бактериальных посевах после лечения положительный эффект отмечали у 50 (84,7%) беременных.

Во втором триместре 126 беременных в возрасте 19-40 лет получили местную санацию кандидозного вульвовагинита препаратом Залаин (сераконазола нитрат 300 мг) однократно. В контрольных мазках на биоценоз, посевах из влагалища исчезновение *Candida* выявили в 89 случаях (72%).

В третьем триместре беременности лечение по поводу кандидоза назначали 174 беременным в возрасте 18-42 года клотримазолом (100 мг №6), положительный эффект наблюдали у 146 пациенток (83%).

Заключение. Своевременное выявление и санация вульвовагинитов у беременных женщин позволяет снизить риски гнойно-септических осложнений в послеродовом периоде.

ВЫЯВЛЕНИЕ ИНГИБИТОРОВ МЕТАЛЛО-В-ЛАКТАМАЗ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ, РЕЗИСТЕНТНЫХ К КАРБАПЕНЕМАМ, МЕТОДОМ «ШАХМАТНОЙ ДОСКИ»

Афиногенова А.Г.¹, Ворошилова Т.М.², Афиногенов Г.Е.¹

¹ СПб государственный университет; ² Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М.Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург, Россия

DETECTION OF RESISTANT TO CARBAPENEMS GRAMNEGATIVE BACTERIA' MBL INHIBITORS USING «CHECKERBOARD ARRAY»

Afinogenova A.G.¹, Voroshilova T.M.², Afinogenov G.E.¹

¹ St. Petersburg State University; ² A.M. Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, St. Petersburg, Russia

Цель – изучение возможности усиления действия карбапенемов в отношении резистентных грамотрицательных микроорганизмов, продуцирующих МБЛ, с помощью лекарственного препарата «Бонефос» из группы бисфосфонатов.

Материалы и методы. Фенотипическое определение МБЛ клинических тест-штаммов Г(-) бактерий *Pseudomonas aeruginosa* 532/14 и *Acinetobacter baumannii* 346/14 с высоким уровнем резистентности к карбапенемам (в отношении *P. aeruginosa* МПК имипенема и меропенема составили 512 мкг/мл; в отношении *A. baumannii* МПК имипенема – 256 мкг/мл, МПК меропенема – 128 мкг/мл) проводили с помощью Е-теста (полоски с имипенемом – имипенемом+ЭДТА фирмы Биомерье, Франция). Методом ПЦР осуществляли генотипирование карбапенемаз с использованием аппаратуры Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия), CFX96 (Bio-Rad, США) и наборов реагентов для выделения генов карбапенемаз «АмплиСенс». Применяли бисфосфонат «Бонефос» /клодроновая кислота/ и ЭДТА в качестве контроля. Изучение усиления действия карбапенемов в сочетании с ЭДТА или с Бонефосом выполняли методом «шахматной доски». Синергидный эффект карбапенемов и бисфосфоната оценивали количественно по формуле в виде индекса фракционной ингибирующей концентрации (FIC).

Результаты и обсуждение. Во всех опытах наблюдали синергидное действие совместного применения Бонефоса с имипенемом или меропенемом в отношении обоих тест-штаммов *P. aeruginosa* 532/14 и *A. baumannii* 346/14 с высоким уровнем резистентности.

Выводы. В сочетании с Бонефосом в отношении *P. aeruginosa* отмечали усиление действия имипенема в 16-256 раз, меропенема

– в 16-1024 раза; в отношении *A. baumannii* выявили возрастание активности имипенема в 256-512 раз, меропенема – в 4-256 раз. Такой эффект получен при использовании Бонефоса в концентрациях от 1/2 МПК (15000 мкг/мл) до 1/64 МПК (469 мкг/мл).

Aim – the evaluation of possibility to increase carbapenems efficacy using bisphosphonate "Bonefos" against resistant gramnegative bacteria producing MβL.

Materials and methods. E-test (IPM – IPM+EDTA, BioMerieux, France) was used for phenotypic determination of clinical G(-) strains' MβL (*Pseudomonas aeruginosa* 532/14 and *Acinetobacter baumannii* 346/14 with high resistance level to carbapenems: against *P. aeruginosa* IPM MIC and MEM MIC were 512 μg/ml; against *A. baumannii* IPM MIC was 256 μg/ml, MEM MIC was 128 μg/ml). The carbapenemases genotyping was held with PCR using "Rotor Gene 6000" (Corbett Research, Australia), CFX96 (Bio-Rad, USA) and reagent sets "AmpliSense MDR MβL" (Federal Institute of Epidemiology, Russia). Bisphosphonate "Bonefos" (clodronic acid) and EDTA (control) were used. The evaluation was designed by a "checkerboard array". The synergic effect of each carbapenem with Bonefos was estimated quantitatively using fractional inhibitory concentration index (FIC).

Results and discussion. All tests showed the synergic effect of combined usage of Bonefos with IPM or MEM against both strains *P. aeruginosa* 532/14 and *A. baumannii* 346/14 with high level of resistance.

Conclusions. In combination with Bonefos we noted the increase of IPM action in 16-256 times and MEM action in 16-1024 times against *P. aeruginosa*; against *A. baumannii* the efficacy of IPM was higher in 256-512 times, MEM action – in 4-256 times. This effect was obtained using Bonefos in doses from its 1/2 MIC (15000 μg/ml) to 1/64 MIC (469 μg/ml).

РОЛЬ МИКРОБНЫХ АССОЦИАЦИЙ В ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЕ ПАЦИЕНТОВ С ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПОЙ

Ахметова С.Б., Котенева Е.Н., Феоктистов В.А., Абдулина Г.А., Карибаев С.А.

Карагандинский государственный медицинский университет, Караганда, Казахстан

THE ROLE OF MICROBIAL ASSOCIATIONS IN THE ETIOLOGICAL STRUCTURE OF DIABETIC FOOT PATIENTS

Akhmetova S.B., Koteneva E.N., Feoktistov V.A., Abdulina G.A., Karibaev S.A.

Karaganda State Medical University, city of Karaganda, Kazakhstan

Основную этиологическую роль при диабетической стопе играют условно-патогенные микроорганизмы, которые отличаются наличием микробов-ассоциантов и большого количества факторов патогенности.

Цель работы – оценить роль микробных ассоциаций и свойства микроорганизмов, изолированных от пациентов с диабетической стопой, с оценкой факторов патогенности, антибиотикорезистентности и способностью к образованию биопленок.

Материалы и методы. Исследовали раневое отделяемое больных инсулинозависимым сахарным диабетом. Идентификацию проводили при помощи MALDI-TOF спектрометрии.

Результаты. При микробиологическом обследовании 30 больных контрольной группы, имеющих хирургическую раневую инфекцию нижних конечностей без диабетического фона, было идентифицировано 45 штаммов условно-патогенных микроорганизмов. Наиболее часто компоненты микробных ассоциаций были представлены стафилококком с грамотрицательными микроорганизмами (50%), а также со стрептококками (25%). Ассоциации с участием представителей родов *Candida* и *Proteus* выявили в 12,5%. В результате проведенного исследования было идентифицировано 60 штаммов возбудителей у 29 пациентов основной группы. Установлено, что в очаге поражения на стопе выделяется как монокультура (40,7%), так и ассоциация микроорганизмов (59,3%). В ассоциации, выделенной из раневого отделяемого, было идентифицировано 16 вариантов комбинаций микроорганизмов. Наиболее часто обнаруживали комбинации: *Staphylococcus aureus*, *Enterobacteriaceae* spp., *Proteus* spp., *Candida* spp., *Pseudomonas* spp. Выделяли и такие микроорганизмы, как *Enterococcus raffinosus*, *Klebsiella oxytoca*, *Corynebacterium* spp.

Выводы. Выделенные штаммы способны образовывать биопленки и характеризуются высокой частотой резистентности ко всем

изученным антибиотикам. Эти свойства микроорганизмов служат показателем того, что они могут длительное время персистировать в организме человека, создавая очаги хронической инфекции.

НОВЫЙ АНТИМИКРОБНЫЙ ГЕЛЬ С НИОСОМАМИ КРЕМНИЙОРГАНИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ

Базиков И.А.

Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия

NEW ANTIMICROBIAL GEL NIOSOMES NATURE

Bazikov I.A.

Stavropol State medical university, Stavropol, Russia

Инновационные технологии в области создания новых антимикробных лекарств основываются на применении инкапсулирования фармацевтических композиций в нановезикулы. Такой подход дает возможность принципиальным образом изменять свойства лекарств: сделать их более эффективными, влиять на способ и режим их применения, придать адресность и снизить побочные эффекты. Для конструирования ряда лекарственных гелей в качестве наноконтейнеров ранее использовали ниосомы кремнийорганической природы.

Цель работы – создание опытного образца лекарственного антимикробного геля с высокой трансдермальной активностью для наружного лечения бактериальных и грибковых инфекций.

Материалы и методы. Для разработки лекарственного препарата комбинированного действия применяли гентамицин и флуконазол. В качестве поверхностно активного соединения для формирования ниосом использовали ПЭГ-12 диметикон. На первой стадии исследования везикулы формировали при интенсивном механическом перемешивании компонентов с помощью АПВ гомогенизатора. Иммуобилизацию фармацевтической композиции осуществляли ультразвуковым методом получения инкапсулирования ниосом. Дисперсию ниосом и лекарственные вещества озвучивали при частоте – 20 кГц, мощности – 200 Вт. Для экспозиции применяли временные интервалы в 15, 30 и 45 минут.

Результаты исследований представлены в таблице.

Таблица
Содержание фармацевтической композиции в ниосомах при различных временных интервалах обработки ультразвуком

Временной интервал экспозиции УЗ-обработки (мин.)	Мощность озвучивания (Вт)	Количество фармацевтической композиции (%)
15	150	51
30	200	63
45	250	61

На втором этапе работы разрабатывали лекарственную форму – фармацевтический гель. После включения фармацевтических веществ в ниосомы данную суспензию вносили к другим компонентам эмульсии при комнатной температуре.

Заключение. За счёт подбора оптимальной мощности и времени воздействия ультразвуком была проведена оптимальная иммуобилизация в ниосомы и разработан опытный образец антимикробного лекарственного геля.

ОБ ИНФИЦИРОВАННОСТИ КОЖНЫХ ПОКРОВОВ БОЛЬНЫХ КУЛЬТУРАМИ CANDIDA SPP.

¹Баландина С.Ю., ¹Александрова Г.А., ¹Степанова К.Н., ²Чарушина И.П.

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет; ²Пермская краевая клиническая инфекционная больница, Пермь, Россия

ABOUT INFECTION OF THE PATIENTS SKIN WITH CANDIDA SPP.

¹Balandina S.Yu., ¹Alexandrova G.A., ¹Stepanova K. N., ²Charushina I.P.

¹Perm State National research University; ²Perm Regional Clinical Hospital of Infectious Diseases, Perm, Russia

Передача зоокоминальных инфекций происходит разнообразными путями, из которых главными являются руки персонала, боль-

ных, медицинские изделия и предметы обстановки в медицинских организациях. У ВИЧ-инфицированных лиц частота заболеваемости кандидозом прогрессивно возрастает в зависимости от стадии основного заболевания, характеризующейся выраженностью иммунодефицита. Наиболее частый возбудитель кандидоза (до 85%) – *C. albicans*.

Цель – выявление *Candida* spp. с кожных покровов рук пациентов в стационаре для лечения ВИЧ-инфицированных больных.

Материалы и методы. Исследовали 26 смывов с кожных покровов рук пациентов из 16 палат инфекционного отделения для лечения ВИЧ-инфицированных больных г. Перми. Смывы осуществляли ватным тампоном в пробирки с 1% пептонной водой с добавлением глюкозы с последующим высевом на питательную среду Сабуро с антибиотиками.

Результаты. При исследовании смывов с покровов рук пациентов обнаружили, что из 26 отобранных проб в 16 выявили *C. albicans* (в 61,54% от общего количества). *C. albicans* идентифицировали с помощью хромогенного агара. Провели культивирование при 37 ± 1 °C и 42 ± 1 °C.

У лиц женского пола грибы отмечали в 19,23% от отобранных проб. Руки мужчин были контаминированы дрожжевыми грибами в большей степени – рост *C. albicans* наблюдали в 42,31% от общего числа проб.

Следовательно, пациенты при контакте друг с другом и с различными поверхностями могут являться непосредственными источниками передачи *Candida* spp., обладающими способностью в определенных условиях вырабатывать ферменты агрессии.

Заключение. В процессе длительной госпитализации больных с иммуносупрессией возрастает вероятность развития кандидозной инфекции путем передачи возбудителя экзогенным путем.

Transfer of nosocomial infections occurs by a variety of ways, the main way is from hands of staff, patients, medical equipment and furnishings in medical organizations. HIV-infected persons have a progressively increasing frequency of candidosis depending on the stage of the underlying disease, characterized by severe immunodeficiency. The most common causative agent of candidosis (85%) is *C. albicans*.

The purpose of the study was an identification of *Candida* spp. on the skin of hands of HIV-infected patients admitted to hospital.

Materials and methods. 26 washes from skin of hands of patients in 16 chambers of infectious disease clinic for the treatment of HIV-infected patients in Perm were studied. The washes were performed with a cotton swab into the test tube with peptone 1% glucose broth, followed by plating on Sabouraud agar supplemented with antibiotics.

Results. It was found that from 26 samples of hands washes *C. albicans* was revealed in 16 samples (in 61.54% of the total). *C. albicans* was identified using the chromogenic agar. Cultivation was conducted at 37 ± 1 °C and 42 ± 1 °C.

The yeasts were noted in 19.23% of female's samples from hands. Men's hands were contaminated with fungi more frequently - the growth of *C. albicans* was observed in 42.31% of the total number of samples.

Therefore, patients in contact with each other and with different surfaces can be direct transmission source of *Candida* spp., having the ability under certain conditions to produce enzymes of aggression.

Conclusion. In the process of long-term hospitalization of patients with immunosuppression probability to develop *Candida* infection increases by the pathogen transmission by exogenous, route.

ПАТОГЕННЫЕ СВОЙСТВА *CANDIDA* SPP. У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ

¹Баландина С.Ю., ¹Кривоногих К.Н., ¹Александрова Г.А.,
²Чарушина И.П.

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет; ²Пермская краевая клиническая инфекционная больница, Пермь, Россия

PATHOGENIC PROPERTIES OF *CANDIDA* IN HIV-INFECTED PATIENTS

¹Balandina S.Yu., ¹Krivanogikh K. N., ¹Alexandrova G.A.,
²Charushina I.P.

¹ Perm State National research University; ² Perm Krai Clinical Hospital of Infectious Diseases, Perm, Russia

Роль грибов рода *Candida* в патологии человека постоянно возрастает. При исследовании молекулярных механизмов патогенеза

кандидоза показана его зависимость от ферментов фосфолипазы, протеиназы и д.р. *Candida*-инфекции чаще всего выявляют у людей с выраженным ослаблением резистентности макроорганизма.

Цель – определить у выделенных *Candida albicans* фосфолипазную и протеиназную активности.

Материалы и методы. Исследовали смывы с зева и кожных покровов рук больных (52 пробы) инфекционного отделения для лечения ВИЧ-инфицированных пациентов г. Перми. Выделение ферментов проводили с помощью модифицированных методик и селективных сред.

Результаты. В 2014-2015 гг. в КИИБ (Пермь) провели исследования на наличие у ВИЧ-инфицированных больных кандидоза. Пробы отбирали на момент поступления больных в стационар и через 7 дней после их лечения. Из изученных 52 проб в 42 обнаружили и идентифицировали *C. albicans*.

Из числа выделенных грибов *C. albicans*, 57,14% из них обладали фосфолипазной активностью. Изучая степень выраженности опалесцирующего просветления вокруг колонии, выявили, что коэффициент вирулентности находился в интервале 1,68-2,87; через 7 суток он возрос до 3,12. Таким образом, фактор патогенности, спустя неделю, не снижался. Выделенные *C. albicans* были изучены на наличие протеиназной активности. Показано, что 64,28% из них обладали протеиназной активностью. Зона разжижения вокруг колонии от воздействия фермента протеиназы составила от 0,33 до 1,70 мм, что соответствовало коэффициенту вирулентности 1,0-2,81. Через неделю зона разжижения снижалась до 0,67 мм, а коэффициент вирулентности – до 1,60.

Заключение. Большинство выделенных *C. albicans* обладают выраженной патогенностью и могут оказывать серьезное повреждающее действие на организм больных.

The role of *Candida* spp. in human pathology is constantly increasing. Studies of molecular mechanisms of the pathogenesis of candidosis show its dependence on the enzymes phospholipase, protease, etc. *Candida* infections are most often detected in people with severe weakening of host resistance.

The purpose of the article is to determine in phospholipase and proteinase activities of *Candida albicans* isolated from HIV-infected patients.

Materials and methods. Washes from throat and skin of hands of patients (52 samples) at infectious disease ward for treatment of HIV-infected patients in Perm were studied. Enzymatic activities were assessed on selective media using modified methods.

Results. The study was performed in Krai Clinical Hospital of Infectious Diseases in 2014-2015. Samples were taken at the time of admissions to hospital and 7 days after treatment. *C. albicans* was isolated and identified in the 42 samples. Phospholipase activity was found in 57,14% of isolates. Studying the extent of enlightenment opalescent around the colony it was revealed that virulence factor is in the range 1,68-2,87; after 7 days, it increased to 3.12. Thus, the factor of pathogenicity didn't decrease a week later. Isolated *C. albicans* were studied for the presence of proteinase activity. It is shown that 64.28% of them had a proteinase activity. Liquefaction zone around the colony against proteinase enzyme was from 0.33 to 1.70 mm, which corresponds to virulence factor 1,0-2,81. A week liquefaction zone decreased to 0.67 mm, the virulence factor decreased to 1.60.

Conclusion. Most of the isolated *C. albicans* have expressed pathogenicity and can cause serious damaging effect on the patient's body.

ФЕРМЕНТЫ БИОСИНТЕЗА АФЛАТОКСИНОВ В ГЕНОМАХ И ПРОТЕОМАХ МИКРОМИЦЕТОВ (АНАЛИЗ БИОИНФОРМАЦИОННОЙ БАЗЫ ДАННЫХ)

Батаева К.Д., Ершова А.И., Рябинин И.А.

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

ENZYMES OF AFLATOXINS BIOSYNTHESIS IN GENOMES AND PROTEOMES OF MICROMYCETES (ANALYSIS OF BIOINFORMATICAL DATABASE)

Bataeva X.D., Erschova A.I., Ryabinin I.A.

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

Среди группы афлатоксинов многие соединения контролируются в пищевых продуктах и продовольственном сырье, а также кормах для сельскохозяйственных животных. При обнаружении афлатоксинов может быть полезным выделение и идентификация их продуцента, что поможет выявить источник контаминации спорами грибов.

Цель работы – определить круг микромицетов, у которых в геноме и протеоме присутствуют ферменты биосинтеза афлатоксинов.

Материалы и методы. Метаболический путь биосинтеза афлатоксинов и перечень вовлеченных в него ферментов установили с помощью базы MetaCyc. Наличие различных ферментов синтеза у микромицетов определяли с помощью базы данных KEGG (Kyoto Encyclopedia Genes and Genomes), содержащей информацию о геномах и протеомах 110 видов грибов.

Результаты. В синтезе афлатоксинов и родственных соединений, как оказалось, участвуют более 20 ферментов, они характерны исключительно для аскомицетов. В той или иной степени данная группа ферментов представлена у 20 видов грибов, но полный набор этих белков обнаружили только у *Aspergillus flavus* и *A. oryzae*; у других видов семейства *Trichocomaceae* (*A. nidulans*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. clavatus*, *Neosartorya fischeri*, *Penicillium chrysogenum*) присутствуют от 3 до 8 ферментов. 2 фермента (кеторедуктаза норсолоновой кислоты и верзиконолацетат-эстераза) имеются у представителей родов *Ucinocarpus*, *Phaeosphaeria*, *Pyrenophora*, *Bipolaris*, *Zyoseptoria*, *Pseudocercospora*, *Baudoinia* и *Neofusicoccum*. Интересно, что патогенные грибы *Coccidioides immitis* и *C. posadasii* образуют норантрон-синтазу, осуществляющую один из ранних этапов синтеза афлатоксинов.

Традиционно считают, что афлатоксины образуют представители родов *Aspergillus* (секция *Flavi*) и *Penicillium*. В нашем наблюдении продемонстрировано, что круг возможных афлатоксигенных видов значительно шире. Причиной распространения некоторых ферментов биосинтеза среди неродственных видов грибов, возможно, является формирование данного кластера ферментов у предков аскомицетов. Следует учитывать, что фрагментарная представленность кластера ферментов не обязательно связана с дефектами в последовательностях кодирующих генов или с их отсутствием, она может обуславливаться неполной расшифровкой генома. Для окончательного выяснения видового разнообразия афлатоксинообразователей необходим не только поиск ферментов, но и самих афлатоксинов в культуральной жидкости, в том числе – у микромицетов, указанных в данной работе.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИЗУЧЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ *CANDIDA* SPP. К ПРОТИВОГРИБКОВЫМ ПРЕПАРАТАМ РАЗЛИЧНЫМИ МЕТОДАМИ

Батырбаева Д.Ж., Рамазанова Б.А., Таурбаева Н.Т.

Казахский национальный медицинский университет имени С.Д.Асфендиярова, Алматы, Казахстан

A COMPARATIVE ANALYSIS OF RESISTANCE OF *CANDIDA* SPP. TO ANTIFUNGAL DRUGS WITH DIFFERENT METHODS

Batyrbaeva D.J., Ramazanova B.A., Taurbaev N.T.

Kazakh national medical University named after S. D. Asfendiyarov, Almaty, Kazakhstan

Особенность этиотропной терапии кандидоза заключается в том, что, поскольку *Candida* spp. входят в состав постоянной микрофлоры и легко колонизируют слизистые оболочки, эрадикация возбудителя почти никогда не является абсолютной и окончательной. Этот фактор особенно усугубляется во время беременности, когда за счет усиления благоприятных условий возрастает колонизационная активность грибов. Сложность лечения беременных состоит в том, что использование системных антимикотиков нецелесообразно в виду возможных побочных действий, а также отрицательного воздействия на плод. По данным научной литературы, у разных видов *Candida* spp. отмечают разную чувствительность к современным антимикотикам, в частности, к флуконазолу описана исходная устойчивость у *C. glabrata*, *C. krusei*.

В изучении вопросов антимикотикорезистентности выделенных штаммов грибов рассматривают зависимость от видовой принадлежности гриба.

Материалы и методы. В работе изучали 443 штамма грибов, выделенных в разные триместры до и после лечения, методом серийных разведений, а также 132 штамма – с применением тест-системы «Fungitest». Определяли чувствительность грибов к антимикотикам двумя методами для того, чтобы в сравнительном плане показать, соответствуют ли друг другу результаты данных методик.

Результаты. При изучении количественной характеристики штаммов грибов (табл.1), чувствительных к различным антимикотикам, наибольшую чувствительность выявили к миконазолу – 47,9±0,004%; к нистатину – 30,7±0,003%, к флуконазолу – 18,0±0,002%, к клотримазолу – 15,2±0,002%. При изучении антимикотикоустойчивости внутри разных видов обнаружили, что наиболее чувствительной к флуконазолу была *C. tropicalis* – в 27,8±0,008% случаев, затем *C. albicans* – в 24,1±0,01%, *C. kefir* – в 17,2±0,02% и *C. krusei* – в 2,8±0,006%; чувствительность к клотримазолу среди всех видов была практически одинаковой и колебалась в пределах от 12,5±0,02% до 16,4±0,006%; миконазол проявил наибольшую активность среди всех видов: у *C. kefir* – 34,2±0,03%, у *C. glabrata* – 77,0±0,04%; высокую чувствительность к нистатину отмечали у *C. glabrata* – в 45,9±0,04%, самую низкую – у *C. kefir* – в 18,3±0,02%.

Таблица 1

Количественная характеристика чувствительных штаммов различных видов грибов, выделенных от беременных женщин

Виды грибов	Чувствительные штаммы (M±m)			
	Флуконазол	Клотримазол	Миконазол	Нистатин
<i>C. tropicalis</i> (n=260)	27,8±0,008*	16,4±0,006**	41,6±0,008*	23,5±0,007**
<i>C. albicans</i> (n=107)	24,1±0,01*	16,1±0,009***	46,4±0,01*	34,3±0,01**
<i>C. krusei</i> (n=43)	2,8±0,006	15,7±0,01	40,2±0,02*	31,6±0,02*
<i>C. kefir</i> (n=24)	17,2±0,02***	12,5±0,02***(**)	34,2±0,03**	18,3±0,02**
<i>C. glabrata</i> (n=9)	-	-	77,0±0,04	45,9±0,04**
Всего (n=443)	18,0±0,002	15,2±0,002	47,9±0,004	30,7±0,003

Примечание: * достоверность различий P≤0,001 между сравниваемыми группами; ** достоверность различий P≤0,01 между сравниваемыми группами; *** достоверность различий P≤0,05 между сравниваемыми группами

Полученные данные отражают имеющиеся в литературе сведения об устойчивости *C. krusei* к флуконазолу – здесь процент чув-

ствительных штаммов оказался наименьшим среди всех протестированных антимикотиков. *C. glabrata*, имея также исходную резистентность к флуконазолу, также проявила устойчивость к нему в 100% случаев.

Помимо разработки стандартов чувствительности к антимикотическим препаратам, создают автоматизированные системы определения чувствительности, обеспечивающие наиболее объективную оценку. С помощью набора «Fungitest» («Bio-Rad») удается автоматически тестировать 6 системных антимикотиков. Показано 90-95% соответствие результатов этого набора стандартам NCCLS. Нами для изучения взяты только один системный антимикотик – флуконазол, так как остальные, в основном, применяют при лечении системных микозов.

При изучении антимикотической активности 132 штаммов грибов к флуконазолу, у 53 (40,2±0,04%) выявили чувствительность, резистентность обнаружили у 61 (46,2±0,04%), у 18 (13,6±0,03%) наблюдали дозозависимый эффект. Внутри разных видов грибов наиболее чувствительным оказался *C. kefir* (60,0±0,1%), более устойчивым – *C. krusei* (90,3±0,09%). Зависимость от дозы отмечали у 3 видов, причем дозозависимых штаммов больше установили у *C. albicans* (24,3±0,07%) (табл. 2).

При сравнительном анализе определения чувствительности к флуконазолу методом серийных разведений и тест-системы «Fungitest» выявили расхождения во всех изученных группах. Так, при определении с помощью «Fungitest» в 1,6 раза было больше чувствительных штаммов, почти в 2 раза чаще встречали дозозависимые изоляты, процент устойчивых штаммов в 1,5 раза больше был при определении методом серийных разведений.

Таблица 2

Определение чувствительности грибов рода *Candida* к флуконазолу при помощи тест-системы «Fungitest»

Виды грибов	Чувствительность к флуконазолу (M±m)		
	чувствительные	зависит от дозы	устойчивые
<i>C.tropicalis</i> (n=40)	37,5±0,08*	12,5±0,05** (*)	50,0±0,08**
<i>C.albicans</i> (n=37)	45,9±0,08***	24,3±0,07***	29,8±0,08***
<i>C.krusei</i> (n=31)	6,5±0,03***	3,2±0,03	90,3±0,09***
<i>C.kefir</i> (n=15)	60,0±0,1	-	40,0±0,1
Всего (n=132)	40,2±0,04	13,6±0,03	46,2±0,04

Примечание: * достоверность различий ($p < 0,001$) между сравниваемыми группами; ** достоверность различий ($p < 0,005$) между сравниваемыми группами; *** достоверность различий ($p < 0,05$) между сравниваемыми группами.

Заключение. При изучении антимикотиков против *Candida* spp. установили, что к различным антимикотикам между разными видами имеются определенные расхождения. Так, из всех изученных антимикотиков наибольшую активность проявил миконазол (47,9±0,004%), наименьшую – клотримазол (15,2±0,002%). Наиболее чувствительной к флуконазолу была *C. tropicalis* – в 27,8±0,008% случаев, чувствительность к клотримазолу среди всех видов была практически одинаковой, миконазол проявил наибольшую активность против *C. glabrata* – 77,0±0,04%, высокая чувствительность к нистатину определена у *C. glabrata* – 45,9±0,04%.

Наиболее активным препаратом против грибов оказался миконазол, наименее активным – клотримазол. Выбрать один из изученных видов грибов как наиболее чувствительный ко всем антимикотикам не представляется возможным, так как в разных описаниях выявляли различные показатели. Однако можно точно сказать, что *C. krusei* – самый устойчивый вид среди всех видов грибов.

АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ ГРИБКОВОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ В ВОРОНЕЖЕ

Бахметьев А.А., Бахметьева Т.М.

Воронежская государственная медицинская академия имени Н.Н. Бурденко МЗ РФ, Воронеж, Россия

ANALYSIS OF THE STRUCTURE OF FUNGAL DISEASE IN CHILDREN AND JUVENILES IN VORONEZH

Bakhmetiev A. A., T. M. Bakhmetiev

Voronezh state medical Academy named after N. N. Burdenko MOH, Voronezh, Russia

Цель – изучение заболеваемости грибковыми заболеваниями у детей и подростков на территории г. Воронежа.

Материал и методы. Провели анализ грибковой патологии у детей и подростков, наблюдавшихся в микологическом кабинете БУЗ ВО «Воронежский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи» в 2014 г. Использовали показатели статистических отчетов (квартальные, годовой), амбулаторные карты.

Результаты. Общее число зарегистрированных больных грибковыми заболеваниями за изучаемый период составило 1662 случая, при этом больных подростков было 103 (6,2%), детей – 447 (26,9%). Общее количество больных с отрубевидным лишаем составило 427, из них 88 случаев (20,6%) среди подростков и 50 (11,7%) – среди детей. Больных с микроспорией было 303, из них 7 подростков (2,3%) и 296 детей (97,6%). Грибковых заболеваний кожи и ногтей выявили 1482 случая, среди которых 8 подростков (0,5%) и 101 ребенок (6,8%). Таким образом, основную по численности группу детей и подростков с грибковыми заболеваниями кожи составили больные микроспорией. Среди детей, больных микроспорией, девочек – 168 (56,8%), мальчиков – 128 (43,2%). В возрасте от 1 года до 3-х лет – 32 пациента (10,8%), от 7 до 10 лет – 212 (71,6%), от 11 до 14 лет – 52 (17,6%). Среди подростков девочек – 3 (42,9%), мальчиков – 4 (57,1%). Во второй по численности группе больных с отрубевидным лишаем девочек – 78 (56,5%), мальчиков – 60 (43,5%). 37 больных (26,8%) этой группы были в возрасте от 11 до 14 лет, 7-11 лет – 13 (9,4%), старше 14 лет – 88 (63,8%). Около половины детей в группе больных с грибковыми заболеваниями кожи и ногтей составили девочки – 5 (54,5%), мальчиков было 46 (46,5%). Возраст большинства больных этой группы (91 человек, 90%) составил 11-14 лет, от 1 до 3-х лет – 2 (2%), от 4 до 6 лет – 3 (3%), от 7 до 10 лет – 5 (5%). Подростков – 7,3%, все мальчики. 340 пациентов (61,8%) обратились за медицинской помощью самостоятельно. Число активно выявленных больных – 210 человек (38,2%). В очаге заболеваний при обследовании контактированных лиц выявили 96 человек (45,7%); при разных видах профилактических осмотров – 94 (44,8%), при обследовании разными специалистами – 20 (9,5%). То есть, важную роль по выявлению больных грибковыми заболеваниями занимает работа в очаге заболевания среди контактов заболевших.

Выводы. По результатам наших исследований, показано широкое распространение грибковых заболеваний у детей и подростков г. Воронежа. Основными факторами, влияющими на снижение эпидемиологического процесса при дерматомикозах, являются профилактическая деятельность медицинских учреждений, полноценная работа которых обеспечит активное выявление больных, а также работа средств массовой информации. Существенную роль в снижении распространения микроспории имеет усиление контроля эффективности ветеринарного надзора за животными.

ОЦЕНКА АНТИХОЛИНЭСТЕРАЗНОЙ АКТИВНОСТИ *ASPERGILLUS NIGER*

¹Баязитова А.А., Глушко Н.И., Лисовская С.А., Халдеева Е.В., Паршаков В.Р., ²Ильинская О.Н.

¹Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии; ²Казанский Приволжский Федеральный Университет, Казань, Россия

ASSESSMENT OF ANTICHOLINESTERASE ACTIVITY OF *ASPERGILLUS NIGER*

¹Bayazitova A. A., Glushko N. I., Lisovskaya S. A., Khaldeeva E. V., Parshikov V. R., ²Ilyinskaya O. N.

¹Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology; ²Kazan Volga Federal University, Kazan, Russia

Грибы рода *Aspergillus* отличаются многообразной биохимической активностью. Они могут продуцировать различные ферменты, органические кислоты, антибиотики. Отличительной особенностью мицелиальных грибов является производство вторичных метаболитов и микотоксинов, оказывающих патологическое действие на организм человека, животных. Полагают, что производство многих вторичных метаболитов играет важную роль в вирулентности *A. niger*. Известно, что многие токсины ингибируют активность холинэстеразы.

Цель – оценить холинэстеразную активность экстрактов биомассы и культуральной жидкости

Материалы и методы. Изучали 8 штаммов *A. niger*, 181, 171, 502, 321, 344, 846, 620, 1115, выделенных от больных отомикозами. В качестве контроля использовали музейный штамм *A. niger* У-1.

Забор клинического материала выполняли при помощи стерильного ватного тампона с последующим смывом стерильной дистиллированной водой. Посев осуществляли на агаризованную среду Чапека и модифицированную среду Сабуро. После выделения чистой культуры возбудителя, исследуемую культуру выращивали на жидкой питательной среде Сабуро при 30 °С в течение 10 дней.

Для получения биологически активных соединений биомассу отделяли от культуральной жидкости. Экстракцию вторичных метаболитов и микотоксинов из биомассы проводили ацетоном. Определение антихолинэстеразной активности измеряли при помощи холинэстеразных биосенсоров.

Результаты. У трех штаммов *A. niger* 171, 321 и 846 обнаружили ярко выраженное ингибирующее действие (30-60%) культуральной жидкости на активность холинэстеразы. У двух клинических штаммов (502 и 1115) отмечали небольшое увеличение активности холинэстеразы по сравнению с другими исследуемыми штаммами. В остальных случаях ингибирующий и активирующий эффект культуральной жидкости на активность холинэстеразы был практически не выражен.

При исследовании ацетонового экстракта биомассы выявили наличие активирующего эффекта в шести случаях. В одном случае наблюдали ингибирующее действие (штамм У-1) и в одном случае (штамм 620) выраженный эффект отсутствовал.

Выводы. Активирующее действие на иммобилизованную холинэстеразу может оказывать низкая концентрация биологически активных соединений, в том числе – токсинов, пестицидов, антибиотиков.

Полученные результаты служат показателем того, что исследуемые штаммы продуцируют внеклеточные метаболиты, обладающие антихолинэстеразной активностью, что может являться критерием для оценки токсичных свойств *A. niger*.

ОЦЕНКА МИКРОБНОЙ КОНТАМИНАЦИИ ОЧАГОВ ПОРАЖЕНИЯ КРАСНЫМ ПЛОСКИМ ЛИШАЕМ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА

Баязитова Л.Т.¹, Лисовская С.А.¹, Тюпкина О.Ф.¹, Мухамеджанова Л.Р.², Леонтьева Е.С.³

¹Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, Казань; ²Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, Чебоксары; ³Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

A ESTIMATION OF MICROBIAL CONTAMINATION OF LICHEN PLANUS LESIONS OF THE ORAL CAVITY MUCOSA

Bayazitova L. T.¹, Lisovskaya S. A.¹, Tupkina O. F.¹, Mukhamedzhanova L. R.², Leontyeva E. S.³

¹Kazan Scientific-Research Institute for Epidemiology and Microbiology of Rosпотребнадзор, Kazan; ²Ulyanov Chuvash State University named, Cheboksary; ³Kazan State Medical University, Kazan, Russia

Одна из актуальных проблем стоматологии – красный плоский лишай слизистой оболочки полости рта (КПЛ СОПР). Заболевание характеризуется длительным и рецидивирующим течением, наличием тяжелых клинических проявлений, склонностью к малигнизации, сложностью лечения. В последние годы возрос интерес к роли условно-патогенных микроорганизмов в этиопатогенезе этой патологии.

Цель – оценка микробиоценоза очагов поражения и выраженности адгезивного потенциала *Candida* spp. у больных КПЛ СОПР.

Материалы и методы. Обследовали 95 больных КПЛ СОПР, ранжированных в 2 группы: 1 – пациенты с КПЛ СОПР,отягощенные хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП)(n=76); 2 группа – пациенты с КПЛ СОПР, не отягощенные пародонтитом (n=19). Группу сравнения составили 90 больных сопоставимого гендерно-возрастного состава. Биоматериал с очага поражения засеивали на питательные среды (5% кровяной агар, селективный стрептококковый агар, Эндо, Сабуро, Блаурокка). Идентификацию осуществляли по морфологическим, тинкториальным и биохимическим свойствам. Для определения адгезивной активности применяли нитроцеллюлозную пленку с последующей иммобилизацией белка на ее поверхности. Количество адгезировавшихся клеток оценивали по разнице начальной и конечной оптической плотности суспензии клеток.

Результаты. Микробиоценоз очагов поражения был представлен бактериально-грибковой ассоциацией у 79% больных 1 группы и у 53% – 2 группы. Доминировали бактерии *Streptococcus mutans* и *Streptococcus salivarius* (10³-10⁴ КОЕ/тампон), которые чаще высевали с очагов поражения пациентов 1 группы (82,4%); во 2 группе – в 71% случаев. В составе ассоциации наблюдали *Staphylococcus* spp. – у 17% больных 1 группы и у 9% – 2 группы. Плотность грибковой контаминации у пациентов 1 группы была выше: в 9% случаев выявили *Candida* spp. в количестве 10³ КОЕ/тампон. Средний уровень адгезии штаммов *Candida* spp. у лиц с КПЛ СОПР, отягощенным ХГП, составил 16,78±1,64%. У больных 2 группы этот показатель составил 26,28±4,44% (p<0,05). Высокоадгезивные штаммы обладали высокой скоростью роста и активно формировали трубки прорастания. Частота высеваемости *Candida* spp. с очагов поражения коррелировала (r=0,79) с активностью патологического процесса.

Заключение. Установили высокую степень микробной контаминации очагов поражения КПЛ СОПР, особенно – у больных с сочетанной патологией (ХГП). Значимость колонизации *Candida* spp. обусловлена выраженной адгезивной активностью штаммов и способностью к формированию «трубок» прорастания.

One of stomatology actual problems is lichen planus of oral cavity mucosa (LP OCM). The disease is characterized by the long-term and recurrent course, heavy clinical manifestations, tendency to malignancy, treatment complexity. The interest in the role of opportunistic pathogen in aetiopathogenesis of this pathology has been increased over the last years.

The objective – the estimation of lesions microbiocenosis and expressiveness of *Candida* spp. adhesive potential in patients with LP OCM.

Materials and methods. 95 patients with LP OCM, ranged in 2 groups: group 1 – patients with LP OCM burdened by chronic generalized

periodontitis (CGP) (n=76); group 2 – patients with LP OCM not burdened by periodontitis (n=19) have been examined. 90 patients of comparable gender and age made the group of comparison. The lesion biometerial was sowed on growth medium (5% of blood agar, selective streptococcal agar, Endo, Sabouraud, Blaurokk). Identification was carried out according to morphological, tinctorial and biochemical properties. To determine the adhesive activity there was applied a nitrocellulose film with the subsequent immobilization of protein on its surface. The quantity of adhered cells was estimated according to the difference between the initial and terminal optical density of cells suspension.

Results. Microbiocenosis of lesions was presented by bacterial-fungal association of 79% of patients in group 1 and 53% in group 2. *Streptococcus mutans* and *Streptococcus salivarius* bacteria (10^3 - 10^4 , CFU/tampon) dominated; they were more often isolated from lesions of patients in group 1 (82,4%), in group 2 – in 71% of cases. *Staphylococcus* spp. was observed as a part of association in 17% of patients in group 1 and in 9% of patients in group 2. The density of fungal contamination of patients in group 1 was higher: in 9% of cases there was revealed *Candida* spp. in the quantity of 10^3 , CFU/tampon. The average level of strain adhesion *Candida* spp. in persons with LP OCM burdened by CGP made $16,78 \pm 1,64\%$. In patients of group 2 this index made $26,28 \pm 4,44\%$ ($p < 0,05$). High-adhesive strains had high speed of growth rate and actively formed germination tubes. The frequency of isolation rate of *Candida* spp. from lesions correlated ($r=0,79$) with the activity of pathological process.

Conclusion. There has been specified a high degree of lesions microbial contamination of LP OCM, especially in patients with the combined pathology (CGP). The significance of *Candida* spp. colonization is caused by expressed adhesive activity of strains and ability to form "tubes" of germination.

ИЗМЕНЕНИЕ СВОЙСТВ СТАФИЛОКОККОВ С ИНДУЦИРОВАННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К АНТИСЕПТИКАМ

Белый Н.В., Румянцева М.В., Пунченко О.Е.

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

CHANGE OF STAPHYLOCOCCUS SPP. WITH INDUCED RESISTANCE TO ANTISEPTIC

Bely N. V. Rumyantseva M.V. Punchenko O.E.

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

Микроорганизмы способны приобретать устойчивость к различным антимикробным препаратам через процессы селекции. Это влечет за собой снижение эффективности терапевтических и профилактических мероприятий. Приобретая устойчивость к антисептикам, микроорганизмы способны развить комбинированную устойчивость – одновременную резистентность к антисептикам и антибиотикам.

Цель – изучить изменения у стафилококков, которые выработали устойчивость к антисептикам в лабораторных условиях.

Материалы и методы. Использовали выделенные из клинических образцов культуры *Staphylococcus aureus* и *S. epidermidis*. Эксперимент проводили с каждым штаммом в трех рядах, применяли 3 антисептика: производное бигуанида, четвертичные аммониевые соединения (ЧАС) и комбинацию металлов с эфирными маслами. Минимальную подавляющую концентрацию (МПК) определяли в жидкой питательной среде методом разведений, после чего индуцировали устойчивость к этой концентрации. После выработки устойчивости, сравнивали морфологические и культуральные свойства до и после индуцирования устойчивости, а также определяли чувствительность штаммов к антибиотикам диско-диффузионным методом и пиаобактериофагу производства Микроген.

Результаты. Для штаммов *S. aureus* удалось выработать устойчивость только к антисептику, действующим началом которого была комбинация металлов с эфирными маслами в концентрации 0,5%. При повторном изучении свойств выявили, что уменьшилась гемолитическая активность, появилась устойчивость к ломефлоксацину и чувствительность к фагу. У *S. epidermidis* получилось выработать устойчивость к антисептикам, в состав которых входят ЧАС (МПК 0,001%) и комбинация металлов с эфирными маслами (МПК 0,2%). Штаммы с измененной устойчивостью образовывали пигмент, пере-

стали лизироваться фагом, а также стали чувствительны к рифампицину и ломефлоксацину. Для пенициллина наблюдали промежуточную устойчивость, в то время как изначально регистрировали резистентность.

Выводы. Появление устойчивости у стафилококков к антисептикам сопровождается как положительными (появление чувствительности к фторхинолонам), так и отрицательными (нечувствительность к фагам) эффектами и требует дальнейшего изучения.

ОСОБЕННОСТИ ПРОТЕОМА МИКОБАКТЕРИЙ КЛАСТЕРА BEIJING B0/W148 В УСЛОВИЯХ IN VITRO КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Беспятых Ю.А.¹, Шитиков Е.А.¹, Алтухов И.А.¹, Бутенко И.О.¹, Алексеев Д.Г.¹, Мельникова Н.², Журавлев В. Ю.², Яблонский П.К.², Ильина Е.Н.¹

¹ НИИ Физико-химической медицины, Москва; ² СПб НИИ Фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия

QUANTITATIVE PROTEOMIC ANALYSIS OF M. TUBERCULOSIS CLUSTER BEIJING B0/W148 STRAINS

Bespyatykh J.¹, Shitikov E.¹, Altukhov I.¹, Butenko I.¹, Alexeev D.¹, Melnikova N.², Zhuravlev V.², Yablonsky P.², Iliina E.¹

¹ Research Institute of Physical-Chemical Medicine, Moscow; ² Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russia

На сегодняшний день актуален функциональный анализ информации, реализуемой геномом *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ), что возможно с привлечение методов протеомного тестирования, в том числе – количественной протеомики.

Цель исследования – описать особенности протеома штаммов *M. tuberculosis* кластера Beijing B0/W148 в сравнении с лабораторным штаммом H37Rv условиях *in vitro* культивирования.

Материалы и методы. В исследовании включили 7 штаммов МБТ кластера Beijing B0/W148 и 1 референтный штамм H37Rv. Экстракцию белка из клеток микобактерий проводили согласно разработанной в лаборатории методике. Концентрацию белка определяли по методу Бредфорда (Bradford, 1976). Разделение белков осуществляли методом одномерного гель-электрофореза с окрашиванием Кумаси (Holbrook, 1976). Трипсинолиз проводили в геле согласно описанной ранее методике (Zhiguo, 2010). Безметочное протеомное профилирование белковых экстрактов осуществляли с использованием квадруполь-времяпролетных масс-спектрометров ABSciex TripleTOF 5600 в режиме IDA. Идентификацию пептидов проводили программными пакетами AB SCIEX ProteinPilot v 4.5 и Mascot v 2.2.07. Дальнейшую квантификацию выполняли с помощью программного обеспечения Progenesis v 4.1.

Результаты. В общей сложности достоверно идентифицировали 1868 белков для МБТ кластера Beijing B0/W148 и 1560 – для штамма H37Rv. При сравнительном количественном анализе штаммов кластера Beijing B0/W148 и H37Rv установили статистически значимые отличия (больше чем в два раза) в степени представленности 118 белков ($p < 0,05$). При этом в штаммах кластера Beijing B0/W148 20 белков имели повышенный уровень экспрессии и 98 – сниженный, по сравнению с H37Rv. По данным СОГ-анализа, обнаруженные изменения затронули преимущественно белки категорий Q и I. Функциональным анализом показано, что мы наблюдаем различия в представленности белков, относящихся к липидному метаболизму и участвующих в ответе на гипоксию. Зафиксированные изменения позволяют сделать предположение о лучшей адаптации штаммов кластера Beijing B0/W148 к выживанию внутри макрофагов.

МИКОБИОТА СТРОИТЕЛЬНЫХ КОНСТРУКЦИЙ БОЛЬНИЧНЫХ ЗДАНИЙ

Богомолова Е.В.

Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

MYCOBIOTA OF BUILDING CONSTRUCTIONS OF HOSPITALS

Bogomolova E.V.

Komarov Botanical Institute RAS, St. Petersburg, Russia

Цель работы – провести сравнительный анализ видового состава и численности микроскопических грибов, характерных для строительных конструкций больничных зданий. Эта информация может быть полезна для разработки стандартных подходов к санации конструкций больниц в процессе их реконструкции или капремонта.

Материалы и методы. Отбор проб для исследования проводили в 2012-2015 гг. в десяти больничных и поликлинических зданиях Санкт-Петербурга и Москвы (наименования учреждений конфиденциальны). Здания находились в процессе подготовки к капремонту и реконструкции. Количество проб в разных зданиях варьировало от 10 до 350. Отбирали пробы отделочных материалов, штукатурки, бетона и кирпича. Микологическое исследование проводили путем посева проб на питательные среды методом разведений, с последующим подсчетом численности КОЕ микроскопических грибов и определением их видовой принадлежности.

Результаты. Спектр видов, характерных для микобиоты больничных помещений, достаточно узок, в нем доминировали представители родов *Penicillium*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Paecilomyces*. Не отмечали существенных отличий микобиоты больничных зданий от микобиоты аналогичных построек другого функционального назначения (административных, учебных, торгово-офисных зданий). Численность грибов составляла, в среднем, 3000-5000 КОЕ на 1 г строительного материала, однако разброс значений был от нулевых и единичных до нескольких сотен тысяч КОЕ на 1 г материала. Наиболее зараженными оказались цокольные этажи и места протечек с кровли, где в отдельных зданиях наблюдали открытые очаги плесневого спороношения. Наибольшую зараженность во всех случаях выявили на штукатурном слое, вероятно, из-за высокой пористости; бетон и кирпич менее подвержены биопоражению. В отдельных зданиях численность плесневых грибов в кирпиче и бетоне была нулевой. Также отметим, что численность КОЕ микромицетов в воздухе обследованных зданий при проведении ремонтных работ и демонтаже строительного материала была резко повышенной и составляла от 5-6 тыс. КОЕ/м³ до 20-30 тыс. КОЕ/м³.

Выводы. Можно рекомендовать при проведении работ по капремонту и реконструкции зданий медицинского назначения проводить полное удаление штукатурного слоя, отделочных материалов и последующую полную поверхностную санацию конструкций с применением современных биоцидных препаратов. Также следует разработать и внедрить регламент проведения строительных работ, подразумевающий обеспыливание конструкций после демонтажа зараженных плесневыми грибами материалов, и одновременное выполнение каждого из этапов работ по всему зданию, так как, в противном случае, зараженная спорами плесневых грибов пыль может проникать из тех помещений, где проводят демонтаж, в другие, где уже сделана санирующая обработка (что зачастую полностью нивелирует результат дезобработки). Данная ошибка была нами зафиксирована практически во всех случаях наблюдения за ходом ремонтных работ.

Aim of the study was the comparative analysis of species composition and CFU (colony forming unit) number of microscopic fungi inhabiting building constructions of hospitals. The obtained data could be useful for the development of hospital constructions disinfection standards, applicable for routine renovation and reconstruction of hospital buildings.

Materials and methods. Samplings were done in 2012-2015 in ten hospital buildings of Moscow and St. Petersburg (information is confidential). Buildings were in the process of reconstruction or renovation. The number of samples varied from 10 to 350, depending on the size of a building. Samples were taken from brick, concrete, plaster, mortar and finishing materials. Mycological study was carried out by inoculation of nutrient media with building material (by the dilution method). After the appearance of fungal colonies they were counted to calculate CFU

number per 1g of material; the species identification also was done.

Results. The spectrum of species which are characteristic for hospital buildings mycobiota, is rather narrow. The genera *Penicillium*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Paecilomyces* were dominating. There were no significant differences between mycobiota of hospital buildings and mycobiota of other buildings (e.g., offices, trade centers, educational buildings, dwellings, etc). The number of microfungi was about 3000-5000 CFU per 1g of building material, varying from zero to thousands CFU per 1 g. The most fungal-biodegraded are ground floors, basements and places with roof leakages, where in some cases there were abundant sporulating mould colonies. The most contaminated material is plaster, probably because of its high porosity. Brick and concrete are less prone to biodegradation. In some buildings the number of mould fungi in brick and concrete was equal to zero. Also it is important that fungal CFU number in the indoor air of the hospital buildings during reconstruction works was extremely high (from 5000 CFU/m³ to 30000 CFU/m³).

Conclusions. It is recommended to include total dismantling of plaster and finishing materials with further total disinfection of all constructions, as a mandatory step in a complex of reconstruction works for hospital buildings. The special standards for reconstruction of hospital buildings should be developed, in which the step of dust removal must be included. Works on dust removal and further disinfection should be done at the same time in the whole building (in parallel), otherwise the infected dust can enter from the "dirty" part of a building to the "clean" ones. This will eliminate the effect of disinfection. This was a common mistake in the most investigated cases of hospital buildings reconstruction.

МОНИТОРИНГ ВЫДЕЛЯЕМОСТИ *CANDIDA* SPP. В ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТНОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ БОЛЬНИЦЕ №1 В 2012-2014 ГОДАХ

Бондаренко Е.В., Гусакова Е.Б., Лапа Т.М.

Воронежская областная клиническая больница №1, Воронеж, Россия

MONITORING OF *CANDIDA* SPP. IN THE VORONEZH REGIONAL CLINICAL HOSPITAL № 1 IN 2012-2014

Bondarenko E.V., Gusakova E.B., Lapa T.M.

Voronezh Regional Clinical Hospital №1, Voronezh, Russia

Цель – определение соотношения различных видов *Candida* при бактериологическом исследовании биоматериалов от пациентов Воронежской областной клинической больницы №1 за последние три года.

Методы и средства. Применяли стандартные методы бактериологических посевов с использованием агара Сабуро. Видовую идентификацию проводили с помощью питательной среды «хромогенный агар для грибов *Candida*».

Результаты. Полученные результаты отражены в таблице.

Годы	2012	2013	2014
всего	1148	1043	1046
<i>C. albicans</i>	921 (80,2%)	866 (83,7%)	850 (81,3%)
<i>C. krusei</i>	117 (10,2%)	69 (6,6%)	70 (6,7%)
<i>C. glabrata</i>	59 (5,1%)	54 (5,1%)	81 (7,7%)
<i>C. tropicalis</i>	52 (4,5%)	52 (4,9%)	45 (4,3%)

Candida spp. наиболее часто выявляли в отделяемом половых органов, моче, мокроте, мазках из зева. Отмечали рост количества грибов в 2014 г. (по сравнению с 2012 и 2013 гг.): в крови – с 1% до 7% (*C. albicans* – с 5 до 33, *C. glabrata* – с 2 до 28 культур); в раневом, кожном отделяемом – с 2,9% до 4,3% (*C. albicans* – с 30 до 41); в мазках из зева – с 1,8% до 6,3% (*C. albicans* – с 45 до 135, *C. krusei* – с 5 до 23).

Выводы. По общему количеству все три года лидировала *C. albicans* (80,2-83,7%). На второе место впервые в 2014 г. вышла *C. glabrata*, в предыдущие годы это место занимала *C. krusei*. Наблюдали рост количества грибов в таких биоматериалах, как кровь, раневое отделяемое, мазки из зева. Из крови в 2014 г. больше всего выделяли *C. albicans* (33) и *C. glabrata* (28).

Purpose of the study was to determine the correlation between various types of *Candida* by mycological examination of biomaterials from patients of Voronezh regional clinical hospital №1 in the last three years.

Materials and methods. Applied standard methods of mycological tests using Sabouraud agar. Species identification was performed using

a nourishing environment chromogenic agar for fungi *Candida*.

Results. The obtained results are shown in table.

years	2012	2013	2014
just	1148	1043	1046
<i>C. albicans</i>	921 (80,2%)	866 (83,7%)	850 (81,3%)
<i>C. krusei</i>	117 (10,2%)	69 (6,6%)	70 (6,7%)
<i>C. glabrata</i>	59 (5,1%)	54 (5,1%)	81 (7,7%)
<i>C. tropicalis</i>	52 (4,5%)	52 (4,9%)	45 (4,3%)

Candida spp. the most frequently were detected in genital discharge, urine, sputum, swabs from the throat. Marked increase in the number of fungi in 2014 (compared with 2012 and 2013): in the blood - from 1% to 7% (*C. albicans* from 5 to 33, *C. glabrata* from 2 to 28 crops); in the wound, skin detachable from 2.9% to 4.3% (*C. albicans* from 30 to 41); in smears from the throat, from 1.8% to 6.3% (*C. albicans* from 45 to 135, *C. krusei* from 5 to 23).

Conclusion. Among the total number of *Candida* spp., *C. albicans* (80.2% to 83.7%) was the leader of all three years. To the second place for the first time in 2014 came *C. glabrata*, in previous years, this place was occupied by *C. krusei*. An increase in the number of fungi was observed in biomaterials such as blood, wound and throat swabs. In 2014 *C. albicans* (33) and *C. glabrata* (28) were the most isolated from the blood.

АНАЛИЗ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИППП У ПАЦИЕНТОК ОТДЕЛЕНИЙ ПАТОЛОГИИ БЕРЕМЕННЫХ №2 И №3 В 2014 Г.

Бондаренко Е.В., Коровина Е.В.

Воронежская областная клиническая больница №1, Воронеж, Россия

THE ANALYSIS OF THE PREVALENCE OF DST IN PATIENTS OF THE DEPARTMENTS OF PATHOLOGY OF PREGNANT WOMEN №2 AND №3 IN 2014

Bondarenko E.V., Korovina E.V.

Voronezh Regional Clinical Hospital №1, Voronezh, Russia

Инфекционные заболевания половых органов, вызванные возбудителями ИППП, у беременных женщин увеличивают возникновение таких осложнений, как невынашивание, преждевременные роды, фетоплацентарная недостаточность, внутриутробное инфицирование плода и др.

Цель – анализ структуры возбудителей ИППП у беременных женщин с патологией беременности на ранних сроках (невынашивание) (пациенток ОПБ №2) и у беременных женщин с патологией со сроком беременности более 25 недель (пациенток ОПБ №3) в 2014 г.

Методы и средства. Обследовали клинический материал – соскобы эпителия из цервикального канала. Выявляли наличие ДНК возбудителей: *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum + parvum*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Cytomegalovirus*, *Herpes simplex virus 1* и 2 types. Исследования проводили методом ПЦР-диагностики в режиме реального времени на амплификаторе «Rotor Gene 6000» с использованием тест-систем «Амплиценс» производства ЦНИИ эпидемиологии.

Результаты. Было исследовано 528 проб от пациенток ОПБ№2 с патологией на ранних сроках беременности. Количество анализов составило 2803, из них положительных – 261. Из ОПБ №3, где проходят лечение беременные женщины с патологией на сроках более 25 недель, было изучено 186 проб, количество анализов составило 1015, из них положительных – 143. Соотношение обнаруженных ДНК возбудителей представлено в таблице:

	<i>C. trachomatis</i>	<i>U. urealyticum + parvum</i>	<i>M. hominis</i>	<i>M. genitalium</i>	CMV	HSV (1+2)
ОПБ№2	7,4%	57,4%	14,7 %	3,8%	8,1%	8,6%
ОПБ№3	4,2%	43%	14%	2,9%	12,1%	6,2%

Заключение. Наиболее часто у беременных этих отделений обнаруживали уреоплазмы и микоплазмы, на втором месте у пациенток ОПБ №2 – вирус герпеса, у пациенток ОПБ №3 – цитомегаловирус. Удельный вес хламидий – 7,4% и 4,2% соответственно.

Infectious diseases of the genital organs, caused by pathogens STIs in pregnant women increases the occurrence of complications such as miscarriage, premature labor, fetoplacental insufficiency, intrauterine

infection of the fetus and others.

Goal - to analyze the structure of STI in pregnant women with abnormal early pregnancy (miscarriage) (patients Department of Pathology pregnant №2) and in pregnant women with pathology with gestation over 25 weeks (patients Department of Pathology pregnant №3) in 2014.

Methods and tools. We examined the clinical material - epithelial scrapings from the cervical canal. The presence of DNA of pathogens: *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum + parvum*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Cytomegalovirus*, *Herpes simplex virus 1* and 2 types was revealed. Studies performed by diagnostic PCR in real-time on the thermocycler «Rotor Gene 6000» using test systems «AmpliSens» produced by the Central Research Institute of Epidemiology.

Results. It was studied 528 samples from patients of Department of Pathology pregnant №2 with pathology in early pregnancy. The number of tests made in 2803, including 261 were positive. 186 samples from patients of the Department of Pathology of pregnancy №3 (where pregnant women with pathology of pregnancy 25 weeks undergoing treatment) were studied, the number of tests amounted 1015, 143 were positive.

The ratio of the detected DNA of pathogens presented in the table:

	<i>C. trachomatis</i>	<i>U. urealyticum + parvum</i>	<i>M. hominis</i>	<i>M. genitalium</i>	CMV	HSV(1+2)
DPP№2	7,4%	57,4%	14,7 %	3,8%	8,1%	8,6%
DPP№3	4,2%	43%	14%	2,9%	12,1%	6,2%

Conclusion. *Ureaplasma* and *Mycoplasma* were found in pregnant women most often, the second highest in patients Department of Pathology pregnant №2 – herpes virus, in patients Department of Pathology pregnant №3 – cytomegalovirus. The share of chlamydia – 7,4% and 4,2%.

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ОСНОВНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В ПОСЛЕРОДОВОМ ПЕРИОДЕ

Боронина Л.Г., Блинова С.М., Ковалева У.И., Чикова Е.В.

Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия

ETIOLOGICAL STRUCTURE AND ANTIBIOTIC RESISTANCE OF BASIC PATHOGENS CAUSE PYO-INFLAMMATORY DISEASES IN THE POSTNATAL PERIOD

Boronina L.G., Blinova S.M., Kovalyova U.I., Chikova E.V.

Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia

Цель – изучение этиологической структуры и антибиотикорезистентности основных возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний у родильниц с послеродовыми осложнениями.

Материалы и методы. Проанализировали результаты культурального исследования отделяемого цервикального канала 220 родильниц с послеродовыми осложнениями (эндометрит) в возрасте от 19 до 43 лет, находившихся в перинатальном центре. Доставку и исследование проводили согласно действующей нормативной документации. Для идентификации и тестирования антибиотикорезистентности использовали «MicroScanWalkAway 96», SENSITITRE (TREK), «ATB Expression» и диско-диффузионный метод.

Результаты. В структуре выделенной микрофлоры из отделяемого цервикального канала родильниц с послеродовыми осложнениями (эндометрит) ведущее место (75 штаммов, 53,6%) занимает семейство *Enterobacteriaceae* (основные представители: *Escherichia coli* – 82,7%, *Klebsiella pneumoniae* – 5,3%, *Enterobacter* spp. и *Morganella morganii* – по 4% соответственно, *Proteus* spp. – 2,7%, *Citrobacter* spp. – 1,3%); на втором месте (31 штамм, 22,2%) – род *Enterococcus* (*E. faecalis* – 93,6% и *Enterococcus* spp. – 6,4%); на третьем (18 штаммов, 12,8%) – род *Staphylococcus* (*S. aureus* – 44,5% и *Staphylococcus* spp. – 55,5%). Далее расположены грибы рода *Candida* (7 штаммов, 5%), род *Gardnerella* (4 штамма, 2,8%), род *Streptococcus* (3 штамма, 2,2%), род *Acinetobacter* (2 штамма, 1,4%).

Выявили 6 штаммов *E. coli*, продуцирующих бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС), и 5 штаммов *S. aureus*, устойчивых к цефокситину, а, следовательно, относящихся к methicillin-resistant *S.*

aureus (MRSA).

Заключение. Среди возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний у родильниц лидирует *E. coli* (доля штаммов, продуцирующих БЛРС, 9,7%), на втором месте – чувствительные к антибиотиками *E. faecalis*, затем – *S. aureus* (из них MRSA – 5 случаев). Достоверных различий в этиологии инфекции в раннем и позднем послеродовом периодах не наблюдали ($p < 0,05$); инфекция обусловлена снижением общего иммунного статуса у женщин в дородовой и послеродовой периоды.

The objectives were to study of the etiological structure and the antibiotic resistance of basic pathogens that cause pyo-inflammatory diseases in puerpera with postnatal complications.

Materials and methods. Analyzed results of cultural research on the discharge cervical canal of 220 puerpera with postnatal complications (endometritis) aged 19 to 43 years which were in the perinatal center. Delivery and research were conducted according to the existing standard documentation. The «MicroScanWalkAway 96», SENSITRE (TREK), «ATB Expression» and disk diffusion method were used for identification and antibiotic resistance testing.

Results. In structure of the obtained discharge microbiota of the from the cervical canal of puerpera with postnatal complications (endometritis) the leading place (75 strains, 53.6%) occupies family *Enterobacteriaceae* (the main representatives: *Escherichia coli* – 82.7%, *Klebsiella pneumoniae* – 5.3%, *Enterobacter* spp. and *Morganella morganii* – 4% respectively, *Proteus* spp. – 2.7%, *Citrobacter* spp. – 1.3%); in second place (31 strains, 22.2%) – genus *Enterococcus* (*E. faecalis* – 93.6% and *Enterococcus* spp. – 6.4%); in third place (18 strains, 12.8%) – genus *Staphylococcus* (*S. aureus* – 44.5% and *Staphylococcus* spp. – 55.5%). In following places were genus *Candida* (7 strains, 5%), genus *Gardnerella* (4 strains, 2.8%), genus *Streptococcus* (3 strains, 2.2%), genus *Acinetobacter* (2 strains, 1.4%).

Extended-spectrum β -lactamases (ESBL) were detected in 6 strains of *E. coli*, 5 strains of *S. aureus* resistant to cefoxitin and, therefore, relating to methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA).

Conclusion. Among pathogens causing pyo-inflammatory diseases in puerpera the leading place was taken by *E. coli* (a share of the strains producing ESBL, 9.7%), in second place – *E. faecalis* sensitive to antibiotics, then it was *S. aureus* (from them MRSA – 5 cases). Reliable distinctions in etiology of infection in early and late postnatal periods weren't observed ($p < 0,05$); the infection is caused by decrease in the general immune status of women during the prenatal and postnatal periods.

УСКОРЕННЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИЙ МОЧЕВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ У ДЕТЕЙ

Боронина Л.Г., Блинова С.М., Кукушкина М.П., Устюгова С.С., Панова С.А.

Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия

RAPID DIAGNOSTIC METHODS FOR URINARY TRACT INFECTION IN CHILDREN

Boronina L.G., Blinova S.M., Kukushkina M.P., Ustyugova S.S., Panova S.A.

Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia

Цель – оценить возможность применения ускоренных методов диагностики инфекций мочевыделительной системы у детей для получения быстрых, но при этом точных результатов посева мочи.

Материалы и методы. С помощью анализатора ALIFAX HB&L LIGHT (Alifax, Италия) с технологией лазерного светорассеивания, помогающей обнаружить делящиеся бактерии, было протестировано 249 образцов мочи, собранных классическим способом (средняя порция мочи), катетером и во время операции, от детей в возрасте 1 год-16 лет из урологического и нефрологического отделений ОДКБ № 1 с диагнозами: гидронефроз, уретрогидронефроз, пузырно-мочеточниковый рефлюкс, хронический цистит, острый пиелонефрит, ИМВП, киста почки, нейрогенный мочевого пузыря. Образцы, которые давали индикацию роста, засеивали на чашку Петри с кровяным агаром по методу Айзенберга. Параллельно пробы исследовали на остаточную антимикробную активность (ОАА), которая помогает зафиксировать наличие в образце ингибиторов бактериального роста, таких как антибиотики или другие вещества, обладающие антибактериальной активностью.

Результаты. Проведено исследование 249 образцов мочи, протестированные на анализаторе с предварительно установленным пороговым значением (10000 КОЕ/мл – при аномалиях мочевого выделительной системы без инфекции, 1000 КОЕ/мл – при инфекциях). Через три часа после посева 220 проб показали отрицательный результат (88,4%), что полностью совпало с результатами ряда контрольных посевов на чашки. 29 образцов были положительными (11,6%), из них 15 – коррелировали с результатами традиционного культурального метода: в 10 образцах обнаружили клинически значимую изолированную культуру (чаще – *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus* spp.), в титре $\geq 10^4$ КОЕ/мл, а в 5 – полимикробная биота (два микроорганизма) также в диагностически значимом титре. В оставшихся образцах либо рост отсутствовал ($n=2$), либо его интенсивность была ниже порогового значения при посеве на чашке ($n=2$), либо высевали более трех культур, т.е. имела место контаминация ($n=9$, из них в трех случаях совместно с уропатогенами в диагностическом титре), либо монокультура контаминанта (*Corynebacterium* spp., $n=1$), титр которой не совпадал с титром анализатора. 40,4% образцов имели положительный результат на ОАА при отсутствии индикации роста микроорганизмов, что служит показателем того, что пациенты принимали антимикробные препараты на догоспитальном этапе или непосредственно в стационаре, и средствами были эффективными.

Заключение. Отсутствие ложноотрицательных результатов анализа проб с низким титром бактерий и быстрое их получение за счет кинетических измерений растущей культуры методом лазерного светорассеяния имеет явные преимущества перед традиционными методами. Для диагностики инфекций мочевыделительной системы у детей определение бактериурии в более короткие сроки (3 часа) является принципиально важным, особенно – при получении материала при оперативных вмешательствах.

The aim was to assess the possibility of application of the rapid diagnostic methods for the urinary tract infection in children in order to receive quick, but at the same time exact results of urine culture.

Materials and methods. 249 urine samples including midstream urine, the urine catheter and the urine during the operation have been analyzed by ALIFAX HB&L LIGHT (Alifax, Italy) through the light scattering technology that measures the replication of the bacteria. All the urine samples were from children aged 1 to 16 from the urological and nephrological unit of the Regional Children Hospital No. 1 with diagnoses of: hydronephrosis, urethrohydronephrosis, vesicoureteral reflux, chronic cystitis, acute pyelonephritis, urinary tract infection, renal cyst, neurogenic bladder. Samples which gave growth indication were sowed on a petri plate with a blood agar according to Ayzenberg's method. At the same time the probes were investigated on the residual antimicrobial activity (RAA), which helps to record the existence of bacterial growth inhibitors in a sample such as antibiotics or other substances possessing antibacterial activity.

Results. 249 urine samples were analyzed by the automated method with the previously established threshold value (10000 CFU/ml for anomalies of urinary tract without an infection, 1000 CFU/ml in case of infections). In three hours after the sowing 220 samples showed negative results, which completely coincided with the results from a number of control culture plate. 29 (11,6%) samples were positive, from them 15 – correlated with the results of a traditional cultural method: in 10 samples clinically significant isolation of bacteria were found (more often – *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus* spp.) in charge $\geq 10^4$ CFU/ml and in 5 with polymicrobial biota (two microorganisms) also with the significant charge. In the remained samples growth was absent ($n=2$), or its intensity was below threshold value from the culture plate ($n=2$), or sowed more than three cultures, i.e. the contamination ($n=9$ from them in three cases together with uropatogens on significant charge), or a contaminant monoculture (*Corynebacterium* spp. $n=1$) whose charge didn't coincide with the charge by the automated method. 40,4% of the samples had positive RAA result in the absence of growth indication microorganisms that serves as an indicator of that patients accepted antimicrobial preparations at a pre-hospital stage or directly in a hospital, and means they were effective.

Conclusion. The absence of false negative results of analysis of the probes with low bacterial charges and their quick receiving due to kinetic measurements of the growing culture by light scattering technology has clear advantages before traditional methods. Definition of bacteriuria in shorter terms (3 hours) in principle is important, especially – when receiving surgical material for the diagnosis of urinary tract infections in children.

ТЕРАПИЯ КАНДИДОЗНЫХ ОНИХИЙ И ПАРОНИХИЙ КИСТЕЙ «КАНДИТРАЛОМ»

Буравкова А.Г., Новикова Л.А., Демьянова О.Б.

Воронежская государственная медицинская академия им. Н. Н. Бурденко, Воронеж, Россия

THE THERAPY OF THE CANDIDOSIS ONIHI AND PARONYCHIA BRUSHES WITH «CANDITRAL»

Buravkova A.G., Novikova L.A., Demyanova O.B.

Voronezh State Medical Academy, Russia

Известно, что заболеваемость микозами, в том числе – онихомикозами, увеличивается с возрастом, составляя 3% у детей и подростков и достигая 40-50% у пациентов в возрасте 70 лет и старше. Следовательно, поиск новых методов лечения сохраняет свою актуальность.

Цель исследования – оценить эффективность, безопасность и переносимость итраконазола в форме препарата «Кандитрал» в лечении кандидозных онихий и паронихий.

Материалы и методы. Под нашим наблюдением находились 28 пациентов (15 женщин и 13 мужчин), в возрасте от 16 до 56 лет, страдающих кандидозом. Длительность заболевания – от 6 месяцев до 5 лет. У 8 пациентов диагностировали только кандидозные онихии кистей, у 12 – онихии и паронихии, у 8 – онихии в сочетании с поражением кожи кистей, в том числе – околоногтевых валиков. Диагностику микоза проводили на основании клинической картины и лабораторных данных (микроскопия и/или бактериологическое исследование).

Все наблюдаемые пациенты получили 2 курса итраконазола в виде капсул «Кандитрал» по методу пульс-терапии (400 мг в сутки 7 дней с перерывом в 21 день). Системную терапию сочетали с наружной. При наличии остро воспаленной (отёк, эритема, мокнутие) наносили водные растворы анилиновых красителей в сочетании с кремом «Акридерм ГК» в течение 3-5 дней. После стихания воспаления, использовали крем «Сертамикол» 2 раза в день в течение 2 недель.

До начала лечения, через 1 месяц после начала и по окончании проводили динамическое наблюдение за общими анализами крови и мочи, а также за биохимическими показателями крови.

Результаты. После двух курсов системной терапии, в сочетании с наружной, клинико-лабораторное выздоровление наступило у 23 пациентов. 5 больным, старше 50 лет, страдающим избыточной массой тела и нарушением углеводного обмена, был проведен дополнительный 7-дневный курс лечения, в результате которого у 3 человек было достигнуто клинико-лабораторное выздоровление, а у 2 – только клиническое.

Побочные эффекты в виде двухдневного дискомфорта со стороны желудочно-кишечного тракта наблюдали у 4 пациентов, но это не потребовало отмены препарата. В данных общих анализов крови и мочи, биохимических показателей отклонений от нормы в процессе лечения и по его окончании не выявили. Все пациенты отмечали удобство приёма препарата по методу «пульс-терапии».

Вывод. Итраконазол в форме капсул «Кандитрал», в сочетании с наружной терапией, является эффективным и безопасным средством в лечении дрожжевых микозов кистей в виде онихий, паронихий и поражения гладкой кожи.

ОНИХОМИКОЗЫ: СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ЛЕЧЕНИЮ

Бялик Л.Р.

Воронежская государственная медицинская академия им. Н. Н. Бурденко, Воронеж, Россия

ONYCHOMYCOSES: CURRENT APPROACHES TO THEIR TREATMENT

Byalik L.R.

Voronezh State Medical Academy by N.N. Burdenko, Voronezh, Russia

Широкое распространение дерматомикозов, а также нарастающая устойчивость возбудителей к антимикотикам, делают выбор оптимальной тактики лечения онихомикозов.

Цель исследования – оценка эффективности системной и наружной терапии онихомикозов тербинафином.

Обследованы 63 пациента в возрасте от 25 до 40 лет, обратившихся в клинику в 2014 г. с жалобами на изменение ногтевых пласти-

нок на стопах и кистях (мужчин – 40, женщин – 23).

Результаты. Среди идентифицированных микологической лабораторией видов грибов преобладающее положение занимал *Trichophyton rubrum*, обнаруженный у 57 (90,4%) человек и вызывавший наиболее распространенную дистальную форму онихомикоза. Как моноинфекцию *T. mentagrophytes* var. *interdigitale* отмечали в 6 (9,6%) случаях. У всех больных был вовлечен в процесс ноготь I пальца с приблизительно равной частотой поражения на правой и левой стопе. Поражение ногтевых пластин кистей наблюдали у 8 (12%) пациентов со стажем заболевания более 10 лет. Системное лечение онихомикоза проводили таблетированной формой тербинафина по 250 мг в сутки в течение 12 недель (при значении индекса КИОТОС менее 16 баллов) и 16 недель (при значении индекса КИОТОС более 16 баллов). Для купирования явлений гиперкератоза, затрудняющего распределение системных антимикотиков в ногте, мы с успехом применяли наружные формы тербинафина в виде крема и спрея. Уникальное сочетание мочевины, дибунла и тербинафина расширило клинический спектр применения препарата. Наличие кератолитика мочевины способствовало быстрому проникновению тербинафина в ткани ногтевой пластины и постепенному устранению гиперкератоза. Отрицательные результаты контрольной микроскопии после 12-недельной комбинированной терапии тербинафином (в виде системной и наружной форм) были получены у 57 (90,4%) больных. При контрольном анализе, проведенном на 18-й неделе, выявили отсутствие возбудителя у 60 (95%) человек. На контрольный осмотр через 3 месяца после окончания системной терапии явился 61 пациент. Все больные в процессе лечения отмечали хорошую переносимость таблетированной и наружных форм тербинафина. Побочных действий и осложнений при проведении данного метода лечения не зафиксировали.

Заключение. При оценке эффективности использования тербинафина (таблетки, крем, спрей) в качестве системного и местного средств лечения онихомикозов установили, что препарат может быть рекомендован для применения в амбулаторной практике с учетом его высокой эффективности и безопасности.

ЗАВИСИМОСТЬ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ПОЛИАЗОЛИДИНАММОНИЯ, МОДИФИЦИРОВАННОГО (ПААГ-М) ОТ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ПОЛИМЕРНОГО СОЕДИНЕНИЯ

Вакараева М.М.¹, Нечаева О.В.², Тихомирова Е.И.¹, Ульянов В.Ю.³, Лулева И.О.², Заярский Д.А.¹

¹ Саратовский ГТУ имени Гагарина Ю.А.; ² Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского; ³ Саратовский НИИ травматологии и ортопедии, Саратов, Россия

THE DEPENDENCE OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PAAG-M ON THE PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF THE POLYMER COMPOUND

Vakaraeva M.M.¹, Nechaeva O.V.², Tikhomirova E.I.¹, Ul'yanov V.Yu.³, Luneva I.O.², Zayarskiy D.A.¹

¹Saratov State Technical University; ²Saratov State Medical University; ³The Saratov research institute of traumatology and orthopedics, Saratov, Russia

Поиск эффективных химических соединений с высокой избирательностью антимикробного действия является актуальной проблемой, поскольку препараты с широким спектром действия могут оказывать губительное действие в отношении представителей нормальной микрофлоры.

Цель работы – изучение зависимости антимикробных свойств ПААГ-М от длины полимерной цепи соединения, а также от концентрации гидрат-ионов йода в его составе.

Материалы и методы. Объектом исследования был полиазолидинаммоний, модифицированный гидрат-ионами йода (ПААГ-М), который представляет собой биосовместимый полимер с широким спектром антимикробной активности.

Использовали ПААГ-М с длиной полимерной цепи >100, 100-200, 200-350 и 400-500 кДа и содержанием гидрат-ионов йода 6, 12, 5, 25 и 50 мкг/мл. Антимикробную активность вариантов ПААГ-М определяли методом серийных разведений в отношении стандартных штаммов *Staphylococcus aureus* 209P, *Escherichia coli* 113-13, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 и *Candida albicans* 13108.

Результаты. *E. coli* 113-13 и *P. aeruginosa* ATCC 27853 были чув-

ствительны к ПААГ-М с длиной цепи >100, 100-200, что, вероятно, связано с особенностями строения их клеточной стенки. *S. aureus* 209P проявил большую чувствительность к ПААГ-М с длиной цепи 200-350 и 400-500 кДа. Для *S. aldicans* 13108 подобная зависимость не установлена. Антимикробная активность полимера напрямую зависит от концентрации гидрат-ионов йода.

Выводы. Полученные результаты помогают осуществлять выбор наиболее эффективного химиотерапевтического препарата с заданными физико-химическими характеристиками, что обеспечит его большую избирательность действия.

The search for effective chemical compounds with high selectivity of antimicrobial action is the actual problem because drugs with broad spectrum of action can have a pernicious influence for the representatives of the normal microbiota.

Purpose – to study the dependence of PAAG-M antimicrobial properties from polymer chain length as well as from the concentration of hydrate-ions of iodine in its structure.

Materials and methods. The object of the study was poliazolidinammonium modified by hydrate-ions of iodine (PAAG-M), which is a biocompatible polymer with broad spectrum antimicrobial activity.

PAAG-M was used with the polymer chain length of > 100, 100-200, 200-350 and 400-500 kDa and with the content of hydrate-ions of iodine 6, 12.5, 25 and 50 mg / ml. Antimicrobial activity of PAAG-M variants was determined by method of serial dilutions concerning standard strains *Staphylococcus aureus* 209P, *Escherichia coli* 113-13, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and 13108 *Candida aldicans*.

Results. *E. coli* 113-13 and *P. aeruginosa* ATCC 27853 were sensitive to PAAG-M with a chain length > 100, 100-200, which is probably associated with structural features of their cell walls.

S. aureus 209P was more sensitive to PAAG-M with a chain length of 200-350 and 400-500 kDa. For *C. albicans* 13108 similar dependence has not been established. The antimicrobial activity of the polymer directly depends on the concentration of hydrate-ions of iodine.

Conclusions. The obtained results help to carry out a choice of the most effective chemotherapeutic preparation with desired physico-chemical characteristics that ensure its greater selectivity of action.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СЛУЧАЕВ ТУБЕРКУЛЕЗА С РЕЦИДИВИРУЮЩИМ ТЕЧЕНИЕМ

Васильева Н.Р.¹, Вязовая А.А.², Мясникова Е.Б.^{1,3}, Журавлев В.Ю.³, Нарвская О.В.^{2,3}

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, ²НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, ³СПб НИИ фтизиопульмонологии МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

EPIDEMIOLOGICAL ANALYSIS OF TB CASES WITH RECURRENT COURSE

Vasileva N.R.¹, Vyazovaya A.A.², Myasnikova E.B.^{1,3}, Zuravlev V.U.³, Narvskaya O.V.^{2,3}

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, ²St. Petersburg Pasteur Institute, ³Research Institute of Phthiopulmonology, St. Petersburg, Russia

Цель – выявить факторы риска хронического рецидивирующего течения туберкулеза легких.

Материалы и методы. Провели ретроспективный эпидемиологический анализ историй болезней пациентов в 2009-2013 гг., микробиологические (посев на среды Левенштейна-Йенсена) и молекулярно-генетические исследования (выполнены при поддержке Российского Фонда Науки, грантовое соглашение №. 14-14-00292: выделение ДНК микобактерий туберкулеза (МБТ), сполитипирование, MIRU-VNTR-типирование). Всего изучали 53 клинических изолята МБТ.

Результаты. Объем выборки – 29 случаев хронического рецидивирующего течения туберкулеза легких. Источниками первичного заражения туберкулезом были: у 17,2% (5 чел.) – семейный контакт, у 7% (2) – по месту работы, у 20,7% (6) – пребывание в местах лишения свободы в анамнезе, у 55% (16 чел.) – не установлен. Вредные привычки такие, как курение, отмечали у 16 человек (55,2%), из них двое (12,5%) регулярно употребляли алкоголь. Все пациенты были разделены на 2 группы: рецидив специфического процесса и прогрессирование специфического процесса. Первую группу составили 10 человек (34,5%) с диагнозом «рецидив специфического процес-

са в оперированном легком», мужчин – 7 (70%), женщин – 3 (30%), средний возраст – 26,3 лет. Вторую группу (19 чел., 65,5%) представляли пациенты с диагнозом «фиброзно-кавернозный туберкулез, фаза распада, обсеменения и прогрессирования» (также после хирургического лечения), из них 12 мужчин (63,2%) и 7 (36,8%) женщин, средний возраст – 36,7 лет. Все случаи рецидива были обусловлены *Mycobacterium tuberculosis* генетического семейства Beijing. Генотип микобактерий изменился в одном случае – с Beijing на LAM. Среди пациентов 2 группы возбудитель туберкулеза генотипа Beijing выявляли в 84% случаев, в остальных – LAM9 (15,7%). Смены генотипа возбудителя не зафиксировали. При анализе случаев повторных госпитализаций отмечали: отрывы от лечения и нерегулярное лечение – 44,8% (1 группа – 3 чел., 30%; 2 гр. – 10 чел., 52,2%); плохая переносимость и аллергические реакции на химиотерапию – 41,4% (1 гр. – 6 чел., 60%; 2 гр. – 6 чел., 31,5%); развитие осложнений течения специфического процесса – 65,5% (1 гр. – 8 чел., 80%; 2 гр. – 11 чел., 57,8%): инфильтративный туберкулез бронха – 3,4% (1), эмпиема плевры – 48% (14), свищи, несостоятельности – 44,8% (13), кровотечения – 6,8% (2), дыхательная недостаточность различной степени – 17,2% (5), белково-энергетическая недостаточность – 20,7% (6).

Выводы. Возможными факторами риска рецидивирующего хронического течения туберкулеза можно считать в 44,8% случаев отрывы от лечения и нерегулярное лечение, плохую переносимость и аллергические реакции на химиотерапию – в 41,4%. Большинство случаев было ассоциировано с принадлежностью возбудителя к генотипу Beijing: 1 группа – 100% (10 чел.), 2 группа – 84% (17 чел.). Частота смены генотипа МБТ при повторных госпитализациях составила 3,4%.

Aim: to identify risk factors for chronic recurrent pulmonary tuberculosis.

Materials and methods. We performed a retrospective epidemiological analysis on medical records from 2009 to 2013 years, microbiological and molecular genetic analysis (by support of the Russian Foundation for Science, the projects №. 14-14-00292: DNA isolation of *Mycobacterium tuberculosis* (MBT), spoligotyping, MIRU-VNTR-typing). Totally, were studied 53 clinical isolates of MBT.

Results. In our study 29 cases of chronic recurrent pulmonary tuberculosis were included. Sources of primary tuberculosis infection were: 17.2% (5 people) - family contact, 7% (2) - in the workplace, 20.7% (6) - prison, in 55% (16 people) were not identified. Bad habits such as smoking, were observed in 16 people (55.2%), two of them (12.5%) drank alcohol regularly. All patients were divided into 2 groups: a relapse of a specific process and progression of a specific process. In the first group were 10 patients (34.5%) with a diagnosis of "recurrence of a specific process in the operated lung". There were: men - 7 (70%), women - 3 (30%), mean age - 26.3 years. In the second group (19 patients, 65.5%) were patients with a diagnosis of "fibro-cavernous tuberculosis, contamination and progression" (also after surgery). There were: 12 men (63.2%) and 7 (36.8%) women, mean age - 36.7 years. All cases were due to recurrence *Mycobacterium tuberculosis* genetic family Beijing. Genotype *Mycobacterium* changed in one case - with Beijing on LAM. Among the patients in group 2 TB genotype of Beijing were detected in 84% of cases, other - LAM9 (15.7%). Change of the genotype was not detected. Analysis of cases of readmissions were observed: isolation from the treatment and irregular treatment - 44.8% (group 1 - 3 pt., 30%; group 2 - 10 pt., 52.2%); poor tolerance and allergic reactions to chemotherapy - 41.4% (gr. 1 - 6 pt. 60%; gr. 2 - 6 pt., 31.5%); development of complications for a particular process - 65.5% (gr. 1 - 8 pt. 80%; gr. 2 - 11 pt., 57.8%); infiltrative tuberculosis bronchus - 3.4% (1), empyema - 48% (14), fistulas, insolvency - 44.8% (13), bleeding - 6.8% (2), respiratory failure of varying degrees - 17.2% (5), protein-energy malnutrition - 20.7% (6).

Conclusion. Possible risk factors for chronic recurrent pulmonary tuberculosis can be considered as: in 44.8% of cases - lack of cooperation with patients and irregular treatment, in 41.4% - poor tolerance and allergic reactions to chemotherapy. Most of cases were associated with genotype Beijing. The frequency of changing of genotype of *M. tuberculosis* in readmissions was 3.4%

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБНОГО ПЕЙЗАЖА У НОВОРОЖДЕННЫХ В ПЕРИНАТАЛЬНОМ ЦЕНТРЕ В 2014 Г.

Викулина В.И., Бондаренко Е.В., Боброва Т.М., Полуказакова Н.В.

Воронежская областная клиническая больница №1, Воронеж, Россия

FEATURES OF THE MICROBIAL LANDSCAPE OF THE INFANTS IN THE PERINATAL CENTER IN 2014

Vikulina V.I., Bondarenko E.V., Bobrova T.M., Polukazakova N.V.

Voronezh Regional Clinical Hospital №1, Voronezh, Russia

Цель – анализ структуры микроорганизмов у пациентов отделений Перинатального центра г. Воронежа: новорожденных №1 (ОН№1), выхаживания новорожденных (ОН №3) в 2014 г.

Методы и средства. Исследовали клинический материал (отделяемое зева, пупочной раны, кровь, моча и т.д.) методом посева на питательные среды с последующей идентификацией культур на анализаторе BD Phoenix 100, кровь – на анализаторе Bactec 9050.

Результаты. В ОН№1, где находятся преимущественно здоровые новорожденные, из 3196 проб (зев 3012 и пупочная ранка 184) выделено всего 194 культуры. Основная масса – *COS (Coagulase Streplococcus)*. В ОН№3, где дети с патологией находятся на лечении длительное время, картина другая. Кровь на стерильность: 426 проб, выделено 126 культур (*COS* – 24,4% всех проб, *Enterococcus faecalis* – 1,8%, *Enterococcus faecium* – 2,1%, *Klebsiella pneumoniae* – 0,4% и др. в меньшем количестве). Моча: 1484 пробы, 339 культур (*E. faecalis* – 6,7%, *E. faecium* – 1%, *Escherichia coli* – 4,9%, *Klebsiella* spp. – 5,9% и пр.). Зев: 1454 пробы, 296 культур (*COS* – 16,6%, *S. aureus* – 1%, *E. coli* – 1%, другие энтеробактерии – 1,4% и проч.). Пупочная ранка: 505 проб, 80 культур (*COS* – 10,2%, *S. aureus* – 1,3%, *E. coli* – 1,3%, *K. pneumoniae* – 1% и проч.). Во всех биоматериалах выявляли неферментирующие грам(-) бактерии в небольшом количестве (от 0,1% до 0,6%). Из мочи, зева и крови выделяли *Candida* spp. (0,2%). Причем в крови – *C. glabrata*, в моче – поворну *C. glabrata* и *C. albicans*, в зеве – преимущественно *C. albicans*.

Заключение. Преобладающей биотой в отделениях новорожденных Перинатального центра г. Воронежа является грам(+) биота, в частности *COS*. В физиологическом отделении новорожденных процент высева минимален и составляет 6% – из зева и 4,8% – из пупочной ранки. У детей, длительно находящихся в центре, процент высева выше: 16% – из пупочной раны, 29,5% – из крови, 22,8% – из мочи, 20% – из зева; микробный пейзаж разнообразнее: хотя лидируют *COS*, но заметна доля таких микроорганизмов, как энтерококки (большой процент у *E. faecalis*), энтеробактерии (преимущественно – *E. coli* и *K. pneumoniae*).

ШИГА-ТОКСИН ПРОДУЦИРУЮЩИЕ *ESCHERICHIA COLI*: ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ, ПЦР-ДИАГНОСТИКА И ФАГОПРОФИЛАКТИКА

Воложанцев Н.В., Баннов В.А., Кисличкина А.А., Карцев Н.Н., Веревкин В.В., Красильникова В.М., Мякинникова В.П., Борзиллов А.И., Коробова О.В., Фурсова Н.К., Богун А.Г., Светоч Э.А., Дятлов И.А.

Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Россия

SHIGA TOXIN-PRODUCING *ESCHERICHIA COLI*: GENETIC DIVERSITY, PCR DIAGNOSTICS AND BACTERIOPHAGE PROPHYLAXIS

Volozhantsev N.V., Bannov V.A., Kislichkina A.A., Karcev N.N., Verevkin V.V., Krasilnikova V.M., Myakinina V.P., Borzilov A.I., Korobova O.V., Fursova N.K., Bogun A.G., Svetoch E.A., Dyatlov I.A.

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia

Шига-токсин продуцирующие *Escherichia coli* (STEC) вызывают заболевания различной степени тяжести – от обычной водянистой диареи до геморрагического колита (ГК), часто отягощенного гемолитико-уремическим синдромом (ГУС), представляющим серьезную

опасность для детей младшего возраста и пожилых людей. Смертность при ГУС составляет 5-15%. Эффективных методов лечения STEC-инфекций не предложено, применение антибиотиков не рекомендуют, т.к. их использование повышает риск возникновения ГУС. В связи с этим большое значение приобретает своевременное выявление возбудителя и профилактика заболевания.

Материалы и методы. Для выявления и генотипирования STEC нами разработаны мультиплексные ПЦР-системы, помогающие определять гены цитотоксинов *stx1* и *stx2*, энтерогемолизина, белка интимина, генов синтеза сероспецифических антигенов. ПЦР-системы использовали для выявления носительства STEC у сельскохозяйственных животных, а также при вспышках заболеваний ГК у людей.

Результаты. Наиболее частыми возбудителями ГК и ГУС являются энтерогеморрагические *E. coli* (EHEC) серотипа O157:H7. Однако в последнее время этиологическим агентом этих заболеваний все чаще становятся STEC других серогрупп (O26, O55, O103, 111, O121, O145). При молекулярно-генетическом исследовании STEC, выделенных во время вспышки ГК в Санкт-Петербурге в 2013 г. от заболевших детей и сырого молока, наряду с типичным возбудителем ГК – *E. coli* O157:H7, были выявлены штаммы серотипа O101:H33 – уникального сиквенс-типа и с необычным сочетанием факторов вирулентности – генов шига-токсина 2с, интимина йота 2 и энтерогемолизина.

В системе противоэпидемических мероприятий, направленных на предупреждение возникновения и распространения STEC-инфекции, позитивную роль могут сыграть бактериофаги, активные против возбудителей ГК и ГУС. На сегодняшний день коллективом ГНЦ ПМБ выделена и охарактеризована коллекция бактериофагов, активных против наиболее опасных STEC серотипов O157:H7 и O104:H4, а также серогрупп O26, O55, O103, O111, O121, O125, O126, O128 и O145.

Вывод. На основании изучения биологических свойств, полногеномного секвенирования и экспериментов на лабораторных животных выявлены бактериофаги, перспективные для создания лечебно-профилактических препаратов против возбудителей ГК.

Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) are responsible for diseased varying severity from aqueous diarrhea to hemorrhagic colitis (HC), often compromised with hemolytic uremic syndrome (HUS). The latter is highly dangerous for kids and elderly people, with the mortality rate being of 5-15%. No effective treatments of STEC-infections are available, and antibiotics are not recommended in this case because of the risk of developing HUS. In this context the timely detection of the pathogen as well as the use of preventive measures is of particular importance.

Materials and methods. To identify and genotype STEC we have developed multiplex PCR systems allowing one to identify genes of cytotoxin *stx1* and *stx2*, enterohemolysin, protein intimin, and genes encoding serospecific antigens. The PCR systems were tested to identify STEC in commercial animals and in humans during HC outbreaks.

Results. Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) O157:H7 are common causative agents of HC and HUS. However, in recent years STEC of some other serogroups (O26, O55, O103, 111, O121, O145) have been considered even more often as an etiological agent of these infections. The molecular-genetic analysis of STEC isolated from exposed kids and raw milk during the HC outbreak in St.-Petersburg in 2013 revealed simultaneously strains O101:H33 of the unique sequence type with an unusual combination of virulence factors, genes of Shiga-toxin 2c, intimin yota 2 and enterohemolysin.

In the system of counter-epidemic measures to prevent the development and spread of STEC infections bacteriophages effective against causative agents of HC and HUS may play a positive role. Today SR-CAMB possesses a developed and characterized collection of bacteriophages against the most dangerous STEC serotypes of O157:H7 and O104:H4, and also against O26, O55, O103, O111, O121, O125, O126, O128 and O145 strains.

Conclusion. The study of biological properties, DNA sequencing data and experiments on laboratory animals allowed us to find candidate bacteriophages to be used in designing treatment – and – prophylactic anti-HC formulations.

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ СЕПСИСА

Волошина О.А., Ключникова С.В., Гуськова Е.Н.

Клинико-диагностический центр «Здоровье», Ростов-на-Дону, Россия

ETIOLOGICAL STRUCTURE OF SEPSIS PATHOGENS

Voloshina O.A., Kluchnikova S.V., Guskova E.N.

Clinico-Diagnostic Center «Zdorovie», Rostov-on-Don, Russia

Цель – определить видовой состав возбудителей сепсиса, выделенных из крови пациентов, обратившихся в клинико-диагностический центр «Здоровье» г. Ростова-на-Дону.

Материалы и методы. За период 2014 - март 2015 г. было проведено 336 исследований крови на аэробную/анаэробную биоту. Исследование осуществляли с помощью анализатора гемокультуры Bactec 9050 (BD, США). Идентификацию выделенных культур и определение их чувствительности к антибактериальным и антифунгальным препаратам выполняли с применением автоматического баканализатора VITEK2compact30. Видовую идентификацию грибов проводили с использованием агара Сабуро (Оксид), CHROMagar Candida (DRG), тест-систем Auxacolor (Биорад) и VITEK2compact30.

Результаты. Из 336 проб крови положительную гемокультуру выявили у 81 пациента (24%). Грамположительные возбудители выделяли в 53% случаев (43 чел.), грамотрицательные – в 14% (11), неферментирующие микроорганизмы (*Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas aeruginosa*) – в 15% (12). Частота обнаружения дрожжевых грибов составила 22% (18). В большинстве случаев (97,5%) микроорганизмы присутствовали в крови в монокультуре и только в 2,5% – в ассоциациях, которые состояли из 3-4 изолятов и были представлены следующими сочетаниями: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *A. baumannii* и *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Candida tropicalis*. Видовой состав *Candida* spp. был представлен преимущественно *C. albicans* – 16% (13), *C. glabrata* – 2,5% (2), *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. zeylanoides* выявляли в 1,2% (1). При оценке чувствительности к антифунгальным препаратам наблюдали высокую чувствительность к амфотерицину В, вориконазолу, флуконазолу и флюцитозину всех выделенных штаммов *Candida*.

Выводы. В этиологической структуре возбудителей сепсиса преобладали грамположительные микроорганизмы, немаловажное значение имели неферментирующие и грамотрицательные микроорганизмы. Высока роль *Candida* spp. (22%), а их сохраняющаяся чувствительность к антимикотикам, в целом, создает благоприятную картину, но требует дальнейшего мониторинга.

Objective. To determine the species composition of sepsis pathogens isolated from blood of the patients at Clinical Diagnostic Center "Zdorovie", Rostov-on-Don.

Materials and Methods. Over a period of 2014 - March 2015 the total of 336 blood examinations for aerobic/anaerobic biota have been performed. All examinations were performed using hemoculture analyzer Bactec 9050 (BD, USA). The identification of cultures isolated and determination of their susceptibility to the antibacterial and antifungal agents was performed using the automatic bacteriologic analyzer VITEK2compact30. We used Sabouraud's agar (Oxoid), CHROMagar Candida (DRG), test-systems Auxacolor (BioRad) and VITEK2compact30 for fungal species identification.

Results. In the total number of 336 blood samples the positive hemoculture was identified in 81 patients (24%). Gram-positive pathogens were isolated in 53% of cases (43 patients), gram-negative pathogens – in 14% (11 patients), nonfermentable microorganisms (*Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas aeruginosa*) – in 15% (12 patients). Yeast fungi detection was successful in 18 patients (22%). In the majority of cases (97.5%) microorganisms were found in blood samples as monoculture and only in 2.5% in associations, which consisted of 3-4 isolates and were represented by the following combinations: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *A. baumannii* and *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Candida tropicalis*. *Candida* spp. were primarily represented by *C. albicans* – 16% (13 patients), followed by *C. glabrata* – 2.5% (2 patients), *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. zeylanoides* were detected in 1.2% (1 patient). All fungal strains were highly susceptible to amphotericin B, voriconazole, fluconazole and flucytosin.

Conclusions. Gram-positive microorganisms dominate in the etiological structure of sepsis pathogens, and nonfermentable and

gram-negative microorganisms are also of importance. *Candida* spp. hold a prominent place (22%) and generally susceptible to antifungal compounds, but the further monitoring is essential.

ВИДОВОЙ СОСТАВ ГРИБОВ РОДА CANDIDA SPP., ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МОЧИ

Волошина О.А., Шанаева Е.А., Гуськова Е.Н.

Клинико-диагностический центр «Здоровье», Ростов-на-Дону, Россия

SPECIES COMPOSITION FUNGI OF CANDIDA SPP. ISOLATED FROM URINE

Voloshina O.A., Shanaeva E.A., Guskova E.N.

Clinico-Diagnostic Center «Zdorovie», Rostov-on-Don, Russia

Цель – определить частоту, видовой состав, а также чувствительность к антифунгальным препаратам *Candida* spp., выделенных из мочи пациентов, обратившихся в Клинико-диагностический центр «Здоровье» г. Ростова-на-Дону.

Материалы и методы. За период январь 2014 - февраль 2015 г. было проведено 9568 обследований мочи. Из них микологическому исследованию было подвергнуто 528 образцов от пациентов различных возрастных групп и нозологических форм. Видовую идентификацию грибов осуществляли с использованием агара Сабуро (Оксид), CHROM-agar *Candida* (DRG), тест-систем Auxacolor (Биорад) и автоматического баканализатора VITEK2compact30. Чувствительность к антифунгальным препаратам определяли с помощью VITEK2compact30.

Результаты. При микологическом исследовании мочи 528 пациентов обнаружили *Candida* spp. в 4% случаев. При этом в 80% они были выделены из мочи беременных женщин, в 15% – от больных в стационаре и в 10% – от пациентов поликлиники. Видовой состав был представлен преимущественно *C. albicans* – 81% (17), *C. kefyr* – 9,5% (2), *C. parapsilosis*, *C. glabrata* – по 4,8%. У беременных женщин в 100% случаев выделяли *C. albicans*, у пациентов из стационара с одинаковой частотой (4,8%) – *C. albicans*, *C. kefyr*, *C. parapsilosis*.

При оценке чувствительности к антифунгальным препаратам все выделенные штаммы *Candida* spp. проявили высокую чувствительность к амфотерицину В, вориконазолу, флуконазолу и флюцитозину.

Выводы. При микологическом исследовании мочи частота выделения *Candida* spp. составила 4% с преобладанием *C. albicans*. Все выделенные штаммы сохраняли высокую чувствительность к антифунгальным препаратам. Полученные данные являются показателем целесообразности проведения микологического исследования мочи с целью выявления *Candida* spp. и своевременной профилактики различного рода осложнений, вызванных грибами.

Objective. To evaluate frequency, species composition and susceptibility to antifungal agents of *Candida* spp., isolated from urine of the patients applied to the Clinical Diagnostic Center "Zdorovie" in Rostov-on-Don.

Materials and Methods. Analysis of 9568 urine samples over a period of January 2014 – February 2015, which includes mycological examination of 528 samples from the patients of different ages and nosological entities. To identify fungi species we used Sabouraud's agar (Oxoid), CHROM-agar *Candida* (DRG), test-systems Auxacolor (BioRad) and automatic bacteriologic analyzer VITEK2compact30. The susceptibility to antifungal agents was identified using VITEK2compact30.

Results. The mycological examination of 528 urine samples showed *Candida* spp. in 4% of the total number of cases. At that 80% of them were isolated from pregnancy urine, 15% from hospital patients' urine and 10% from polyclinic patients. Species composition was primarily represented by *C. albicans* – 81% (17), *C. kefyr* – 9.5% (2), *C. parapsilosis* – 4.8% and *C. glabrata* – 4.8%. As for pregnant women *C. albicans* is identified in 100% of cases, and in hospital patients - *C. albicans*, *C. kefyr* and *C. parapsilosis* with equal frequency of 4.8%. The results of the susceptibility to antifungal agents evaluation revealed high sensitivity of all isolated strains to amphotericin B, voriconazole, fluconazole and flucytosin.

Conclusions. The mycological examination of urine samples has found the frequency of *Candida* spp. isolation as 4%, with prevalence of *C. albicans*. High susceptibility to antifungal agents persisted in all isolated strains. Our findings confirm the necessity of the urine mycological examination for the purpose of *Candida* spp. identification and well-timed prevention of different mycogenetic complications.

РАЗНООБРАЗИЕ И ОПАСНОСТЬ *ACHROMOBACTER* SPP., ВЫЗЫВАЮЩИХ ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫЕ ИНФЕКЦИИ

Воронина О.Л.¹, Кунда М.С.¹, Рыжова Н.Н.¹, Аксенова Е.И.¹, Семенов А.Н.¹, Лазарева А.В.², Семькин С.Ю.³, Амелина Е.Л.⁴, Симонова О.И.², Лунин В.Г.¹, Баранов А.А.², Чучалин А.Г.⁴, Гинцбург А.Л.¹

¹ Федеральному научно-исследовательскому центру эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи МЗ; ² Научный центр здоровья детей РАМН; ³ Российская детская клиническая больница МЗ; ⁴ НИИ пульмонологии ФМБА, Москва, Россия

DIVERSITY AND DANGER OF *ACHROMOBACTER* SPP., CAUSING NOSOCOMIAL INFECTION

Voronina O.L.¹, Kunda M.S.¹, Ryzhova N.N.¹, Aksenova E.I.¹, Semenov A.N.¹, Lasareva A.V.², Semykin S.Yu.³, Amelina E.L.⁴, Simonova O.I.², Lunin V.G.¹, Chuchalin A.G.⁴, Baranov A.A.², Gintsburg A.L.¹

¹N.F. Gamaleya Research Center for Epidemiology and Microbiology; ²Scientific Centre of Children Health RAMS; ³Russian Children's Clinical Hospital; ⁴Research Institute of Pulmonology FMBA of Russia, Moscow, Russia

Идентификация, а значит и изучение молекулярной эпидемиологии неферментирующих грам-отрицательных бактерий, становятся все более доступными с развитием новых технологий в медицинской микробиологии. *Achromobacter* spp. относится к таким микроорганизмам, которые ранее было сложно отличить от *Pseudomonas* spp. и *Burkholderia cepacia complex* (Bcc).

Цель исследования – изучение вклада *Achromobacter* spp. во внутрибольничные инфекции на примере часто госпитализируемой группы больных муковисцидозом.

Материалы и методы. Проанализировали образцы мокроты и трахеального аспирата от 300 больных 1949-2013 годов рождения с помощью микробиологических методов, мультилокусного секвенирования ДНК (MLST), полногеномного секвенирования (WGS) штамма наиболее распространенного генотипа (ST).

Результаты. 25% пациентов выборки были инфицированы *Achromobacter* spp. 26 разных генотипов, относящихся к пяти зарегистрированным видам и одной геномной группе. 58,5% больных инфицированы *A. ruhlandii* пяти генотипов, наиболее актуальными из которых были ST36 (63,2%) и ST261 (23,7%). При сравнении пациентов одной возрастной группы выявили, что инфицирование *A. ruhlandii* ST261 коррелирует с более низкими показателями ОФВ1 (объем форсированного выдоха за первую секунду) (медиана – 24,8% против 51,8% для других генотипов). Хронологическим исследованием установили, что в 1990-х ST36 пришел на смену ST261 и получил широкое распространение вследствие вспышки *A. ruhlandii* в стационаре. Пик зараженности бактерией этого генотипа приходится на пациентов 1996-1997 г.р., однако *A. ruhlandii* ST36 продолжают выявлять даже у пациентов 2013 г.р. Трансмиссивность этого генотипа доказывает также обнаружение его у сиблингов в нашей выборке. В США *A. ruhlandii* ST36 зарегистрировали у пациента с иным заболеванием. *A. ruhlandii* ST36 отличает антибиотикорезистентность к большому перечню антимикробных препаратов, чем *A. xylosoxidans*, наличие в геноме варианта гена бета-лактамазы класса D; OXA-258. Внутрибольничная вспышка *A. ruhlandii* описана также в Дании в 2011 г. (Ridderberg W., 2012). Бактерии были генотипированы с помощью внутривлабораторной схемы MLST. При сравнении последовательностей аллелей *atpD- tyrB-рpoB-16S rDNA-icd-recA* с данными WGS штамма *A. ruhlandii* ST36 SCCH3Ach 33-1365 отмечали наличие от одной до четырех замен в указанных генах, что является показателем отличия российского штамма от штамма Дании.

Заключение. Трансмиссивные штаммы *Achromobacter* spp. требуют особого контроля, наряду со штаммами Bcc ST709, и разработкой мер, препятствующих их распространению.

«ВРЕМЯ–ЛЕТАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ» У КАРБАПЕНЕМОВ В КОМБИНАЦИИ С БИСФОСФОНАТОМ В ОТНОШЕНИИ РЕЗИСТЕНТНЫХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Ворошилова Т.М.¹, Афиногенова А.Г.², Афиногенов Г.Е.²

¹ Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М.Никифорова МЧС России; ²СПб государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

«TIME-KILL CURVE» OF CARBAPENEMS AND BISPHOSPHONATE COMBINATION AGAINST RESISTANT GRAMNEGATIVE BACTERIA

Voroshilova T.M.¹, Afinogenova A.G.², Afinogenov G.E.²

¹ The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine; ² St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

Цель – выявить бактерицидное действие карбапенемов и их сочетаний с бисфосфонатами не в одной временной точке, а во времени (4-24 ч).

Материалы и методы. В работе использовали тест-культуру клинического штамма *Pseudomonas aeruginosa* 532/14 с наиболее высоким уровнем устойчивости к карбапенемам, меропенем и имипенем, бисфосфонат «Бонефос» /клодроновая кислота/. Для определения зависимости между бактерицидным действием сочетаний карбапенемов с бисфосфонатом и временем экспозиции их воздействия на микроорганизм применяли «метод шахматной доски». Каждые 4 часа делали высеивание на агар Муллера-Хинтона для оценки наличия бактерицидного эффекта исследуемых комбинаций. На ридере ELx800 (Bio-Tek Instruments Inc.) выявляли время появления логарифмической фазы роста тест-культуры и уровень стационарной фазы.

Результаты и обсуждение. Чтобы уловить синергидный бактерицидный эффект достаточно использовать ½ МПК и ¼ МПК каждого из двух изучаемых в сочетании антимикробных агентов. При высеивании на плотную питательную среду отмечали бактерицидный эффект сочетаний карбапенемов с бисфосфонатом «Бонефос» после 8-часовой экспозиции с тест-штаммом. Тест-культура *P. aeruginosa* в контроле формировала логарифмическую фазу роста через 4 часа от начала культивирования, а стационарную фазу роста – к 24 часам от начала опыта. Присутствие в среде сочетания бисфосфоната с соответствующим карбапенемом препятствовало формированию логарифмической и стационарной фазы роста микроорганизма в течение 4-24 часов.

Вывод. Сочетанное применение карбапенемов и бисфосфоната в дозах меньших, чем их МПК, обеспечивает бактерицидный эффект в отношении резистентного штамма *P. aeruginosa*, продуцирующего металло-бета-лактамазу (генотип VIM).

The aim – to reveal bactericidal action of carbapenems and their combinations with bisphosphonate not only in one time point but in dynamic during 4-24 hours.

Materials and methods. We used the most resistant to carbapenems clinical strain *Pseudomonas aeruginosa* 532/14, MEM and IPM, bisphosphonate "Bonefos" (clodronic acid). The evaluation of dependence between bactericidal action of carbapenem-bisphosphonate combinations and their exposure time was designed as "time-kill curve". The bactericidal effect of tested combinations was estimated by seeding on Mueller-Hinton's agar every 4 hours. Time of appearance of a logarithmic growth phase of test culture and level of a stationary phase were revealed on the reader ELx800 (Bio-Tek Instruments Inc., USA).

Results and discussion. There was enough to use ½ MIC and ¼ MIC of each antimicrobial agent in combination (antibiotic + bisphosphonate) to see their synergic effect. By seeding on Mueller-Hinton's agar bactericidal effect of carbapenem and Bonefos combination was shown after 8 hours exposure with test-strain. In control *P. aeruginosa* 532/14 formed a logarithmic growth phase in 4 hours after cultivation start and a stationary phase – up to 24 hours. The presence of bisphosphonate and carbapenem (IPM or MEM) combination interfered the formation of logarithmic and stationary growth phases of test culture during 4-24 hours.

Conclusion. The combined usage of carbapenems and bisphosphonate in doses less their MIC provides a bactericidal effect against resistant strain *P. aeruginosa* producing MβL (genotype VIM).

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БЛАСТОЦИСТНОЙ ИНВАЗИИ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

Вотинцев М.Н., Азаров Д.В., Кожеко И.В., Гончаров А.Е., Соусова Е.В., Межазакис Ф.И., Козлов С.С.

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова; Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

EPIDEMIOLOGICAL AND MOLECULAR-GENETIC FEATURES OF BLASTOCYSTIS INVASION IN SAINT-PETERSBURG

Votintsev M.N., Azarov D.V., Kojeko I.V., Goncharov A.E., Sousova E.V., Mezazakis F.I., Kozlov S.S.

North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov; Medical Military Academy, St. Petersburg, Russia

Эпидемиологическое и клиническое значение отдельных субтипов *Blastocystis* sp. в настоящее время является предметом дискуссий [Moe K. et al., 1998; Stenzel D., 1996].

Цель исследования – выявление эпидемиологических и молекулярно-генетических особенностей бластоцистной инвазии у пациентов с диарейным синдромом, госпитализированных в отделение инфекционной больницы, а также амбулаторных пациентов с гастроэнтерологическими заболеваниями.

Материалы и методы. Идентификацию бластоцистной инвазии осуществляли путем прямой микроскопии мазков кала и полимеразной цепной реакцией с праймерами к «Barcode»-участку гена рРНК малой субъединицы [Stensvold C. 2012], определение принадлежности штаммов к субтипам *Blastocystis* sp. – путем ПЦП с использованием STS праймеров [Yoshikawa H. 2000].

Результаты. Превалентность у пациентов, госпитализированных с диарейным синдромом, составила 6,4 (95% ДИ 2,81-0,14), в группе амбулаторных пациентов – 7,77% (95% ДИ 5,98-10,05). Генотипирование 34 отобранных образцов позволило отнести продукты амплификации ДНК *Blastocystis* к ST1, ST2 и ST3 субтипам соответственно, причем у пациентов с диарейным синдромом в трех образцах обнаружили ST1 – 50% (95% ДИ 18,8-81,2), в двух других образцах ST3 – 33% (95% ДИ 9,7-70,0), в одном случае субтип идентифицировать не удалось. В группе амбулаторных пациентов с гастроэнтерологическими заболеваниями ST1 отмечали в пяти образцах – 18% (95% ДИ 7,9-35,6), ST2 – в восьми – 29% (95% ДИ 15,3-47,1), ST3 – в тринадцати – 46% (95% ДИ 29,5-64,2). В двух образцах идентифицировать генотипы не удалось.

Заключение. Превалентность бластоцистной инвазии и распределение субтипов *Blastocystis* sp. в изучаемых группах существенным образом не отличается от соответствующих показателей, установленных в европейских странах.

ЭЛЕКТРОННЫЙ РЕГИСТР БОЛЬНЫХ МИКОЗАМИ – ИНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ КОНТРОЛЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ В РЕСПУБЛИКЕ ДАГЕСТАН

Гаджимурадов М.Н., Темиров Т.А.

Дагестанская Государственная Медицинская Академия МЗ РФ, Махачкала, Россия

THE ELECTRONIC REGISTER OF PATIENTS WITH MYCOSIS – OTHER POSSIBILITIES OF CONTROL OF THE EPIDEMIOLOGICAL SITUATION IN THE REPUBLIC OF DAGESTAN

Gadzhimuradov M.N., Temirov T.A.

Dagestan state medical academy MHRF, Makhachkala, Russia

Обилие информации обязывает лечащего врача к накоплению знаний, постоянному совершенствованию смежных дисциплин, участвующих в лечебно-диагностическом процессе и формировании диагноза. Внедрение и использование информационных технологий помогают оптимизировать лечебно-диагностический процесс, интенсифицировать работу персонала и обеспечить своевременной, достоверной и исчерпывающей информацией для целенаправленного

статистического анализа. Необходимость создания электронного регистра микозов была продиктована тем, что регистрация пациентов носила лишь характер переписи и была ограничена как во времени, так и в географии охвата пациентов, и, тем самым, не отвечала современным требованиям.

В отделе информатизации ГБУ РД РКВД МЗ РД с 2005 г. формируют электронный регистр больных с диагнозом инфекций, передаваемых половым путем, и заразными кожными заболеваниями, в том числе – микозами.

Цель внедрения электронного регистра – качественное, полноценное и оперативное информационное обеспечение дерматовенерологической службы и органов управления здравоохранением в вопросах подготовки принятия решений и разработка мероприятий по профилактике и лечению микозов.

Материалы, методы и результаты. Регистр является одним из инструментов управления дерматовенерологической службой и принципиально меняет подход в управлении, помогая на качественно ином уровне осуществлять статистические и научные исследования. На 01.01.2015 г. в электронном регистре представлена информация о 8259 больных с дерматомикозами. Наблюдение осуществляют с момента установления диагноза и продолжают до момента санации очага инфекции.

Исходной информацией для электронного регистра больных является статистическая форма, утвержденная Министерством здравоохранения РФ от 12.08.2003 г. №403: извещение №089/у-кв «О больном с вновь установленным диагнозом: сифилиса, гонореи, трихомониаза, хламидиоза, герпеса урогенитального, микроспории, фавуса, трихофитии, микоза стоп, чесотки».

С помощью программно-математического обеспечения системы происходит не только поддержка учетно-отчетного уровня общепринятой медицинской статистики, но и находится решение различных научно-практических задач. В настоящее время по сведениям из электронного регистра больных проводят расширенный анализ заболеваемости инфекций, передаваемых половым путем, и заразных кожных заболеваний, в том числе – микозов, в разрезе городов и районов Республики Дагестан. С помощью регистра можно получить необходимую информацию о поле и возрасте больных, обстоятельствах выявления заболевания, показателях лабораторных исследований, что дает возможность оперативно подготовить комплекс эпидемиологических мероприятий, способствует объективному учёту больных, автоматизированному расчёту основных медико-статистических показателей и формированию отчетной документации, а также обеспечивает преемственность в работе дерматовенерологических учреждений республики.

Выводы. Созданная и апробированная нами база данных «электронный регистр больных» – это качественно новый подход в клинической практике, иной тип врачебного мышления. В то же время, электронный регистр больных дерматомикозами – это эффективная система мониторинга, обеспечивающая территориальные органы управления здравоохранения полноценной информацией, необходимой для принятия управленческих решений по профилактике и лечению микозов.

На базе ГБУ РД РКВД МЗ РД создан электронный регистр, позволяющий достоверно оценить эпидемиологическую ситуацию заболеваемости дерматомикозами, эффективность диагностических и лечебных мероприятий.

The abundance of information requires the physician to accumulate knowledge, to continue improvement of related disciplines involved in the treatment and diagnostic process and to form the diagnosis. The introduction and use of information technology help to optimize clinical processes, to intensify the work of staff and to provide timely, accurate and comprehensive information for targeted statistical analysis. The need to create an electronic register of mycosis was dictated by the fact that the registration of the patients wore a character of census and was limited both in time and in geographical coverage of patients, and thus does not meet modern requirements.

In the department of information GBC RD RSVDC MH RD since 2005 it has been forming the electronic register of patients with a diagnosis of infections, sexually transmitted infections and infectious skin diseases, including - mycosis.

The purpose of the introduction of the electronic register was quality, full and timely information provision of dermatovenerological services and health authorities in the preparation of decision-making and the development of measures for the prevention and treatment of fungal infections.

Materials, methods and results. Register is one of the management tools of dermatovenereological service and fundamentally changes the approach to the management, helping to carry out statistical and scientific research on a qualitatively different level. On 01.01.2015, the electronic register provides information on 8259 patients with dermatomycoses. Surveillance is carried out after diagnosis and continues until the rehabilitation center of an infection.

The input to the electronic register of patients is a statistical form, approved by the Ministry of Health of the Russian Federation of 12.08.2003 of №403: notice №089 / y-kv "About patient with newly established diagnosis: syphilis, gonorrhoea, trichomoniasis, chlamydia, herpes, urogenital, microsporia, favuse, Trichophyton, athlete's foot, scabies".

With the help of mathematical software system you get not only the support of recording and reporting the level of the standard of medical statistics, but there is a solution of various scientific and practical problems. At present, according to information from the electronic register of patients spend an extended analysis of the incidence of infections, sexually transmitted infections and contagious skin diseases, including - fungal infections, in the context of cities and districts of the Republic of Dagestan. With the help of the register you can receive the necessary information about the sex and age of patients, detection of disease conditions, performance of laboratory tests that allows you to quickly prepare complex epidemiological measures, contributes to the objective patients accounting, automated calculation of basic health statistics and the creation of reports, and provides continuity in the work of dermatovenereological institutions of the republic.

Conclusions. The database "electronic register of patients" created and approved by us - is a new approach in clinical practice, a different type of medical thinking. At the same time, the electronic register of patients with dermatomycoses is an effective monitoring system, providing territorial health authorities complete information necessary for making management decisions for the prevention and treatment of fungal infections.

On the basis of GBC RD RSVDC MH RD it was created an electronic register, allowing to reliably estimating the epidemiological situation of morbidity with dermatomycoses, the effectiveness of diagnostic and therapeutic measures.

СОВРЕМЕННЫЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ТЕНДЕНЦИИ ПОЛИКЛИНИЧЕСКИХ ОНИХОМИКОЗОВ У ОФИЦЕРОВ «КАДРА» С УЧЕТОМ ДЕМОГРАФИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ

Герасимчук Е.В., Гладко В.В., Герасимчук М.Ю.

3 центральный военный клинический госпиталь им. А.А. Вишневого Минобороны РФ; Медицинский институт усовершенствования врачей; Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

MODERN EPIDEMIOLOGICAL TRENDS OF OUTPATIENT ONYCHOMYCOSIS IN CAREER OFFICERS WITH REGARD TO DEMOGRAPHIC PECULIARITIES

Gerasimchuk E.V., Gladko V.V., Gerasimchuk M.J.

A. Vishnevsky 3 Central military hospital of Russian Ministry of defense; Medical Institute of postgraduate education; I. M. Sechenov Moscow state medical University, Moscow, Russia

Цель – проанализировать заболеваемость онихомикозами в свете оптимизации приоритетных регламентированных задач работы структурного подразделения поликлиники, оказывающего специализированную медицинскую помощь больным дерматовенерологического профиля.

Материалы и методы. Изучали медицинские амбулаторные карты, провели катанестический статистический анализ 12591 посещения офицерами «кадра» кожно-венерологического отделения поликлиники в течение 17 лет (1998-2014 гг.) согласно ежегодным сведениям о работе врача, подаваемым в отделение обработки информации и статистики.

Результаты. За отчетный период исследования наблюдали резкое снижение не только общего количества прикрепленных офицеров кадра из-за организационно-штатных мероприятий, но и сокращение посещений данной социально-возрастной группы в структуре

общих посещений прикрепленного контингента поликлиники с 30,2% в 1998 г. до 2% – в 2014 г., связанное с демографическими и хронобиологическими особенностями. В структуре впервые выявленных заболеваний у офицеров «кадра» в абсолютных числах количество больных с онихомикозами было следующим: 3 человека из 16 (19%) в 1998 году; 5 из 19 (26,4%) – в 1999 г.; 4 из 22 (18,2%) – в 2000 г.; 5 из 52 (9,6%) – в 2001 г.; 19 из 95 (20%) – в 2002 г.; 11 из 73 (15%) – в 2003 г.; 11 из 66 (16,7%) – в 2004 г.; 11 из 66 (16,7%) – в 2005 г.; 20 из 75 (26,7%) – в 2006 г.; 15 из 69 (21,7%) – в 2007 г.; 30 из 120 (25%) – в 2008 г.; 22 из 98 (22,4%) – в 2009 г.; 27 из 109 (24,7%) – в 2010 г.; 20 из 166 (12,1%) – в 2011 г.; 15 из 98 (15,4%) – в 2012 г.; 31 из 76 (40,8%) – в 2013 г.; 18 из 77 (23,4%) – в 2014 г. Заболеваемость онихомикозами у офицеров кадра: в 1998 г. – 2,8‰; в 1999 г. – 4‰; в 2000 г. – 3,8‰; в 2001 г. – 5‰; в 2002 г. – 4,5‰; в 2003 г. – 5,1‰; в 2004 г. – 6‰; в 2005 г. – 6,1‰; в 2006 г. – 11,4‰; в 2007 г. – 9,6‰; в 2008 г. – 22,5‰; в 2009 г. – 16,5‰; в 2010 г. – 34,4‰; в 2011 г. – 20,3‰; в 2012 г. – 23,4‰; в 2013 г. – 33‰; в 2014 г. – 33,4‰.

Выводы. При исследовании выявлена новая группа риска по инфекционным заболеваниям ногтей, обратная корреляционная связь между уменьшением в абсолютных цифрах количества прикрепленных офицеров «кадра», их посещениями и ростом заболеваемости онихомикозами в данной социально-возрастной группе. Актуальной задачей на современном этапе является разработка и внедрение в клиническую практику современных рекомендаций не только по диагностике, лечению микотической инфекции ногтей, но и проведение активной профилактической работы, рациональной психотерапии.

Purpose – to analyze the incidence of onychomycosis in the light of the optimization of priority regulated tasks associated with dermatology and venereology unit services at the outpatient department.

Methods and materials. There was a 17-year follow-up study with statistical analysis of 12591 career officers visits, from 1998 to 2014. The cases were identified from outpatient medical records and the annual information of the doctor's practice supplied to the Department of Statistics.

Results. During the reporting period, not only a sharp decrease of the total number of career officers due to staffing measures, but also the reduction of this socio-age group visits in the structure of the total visits amount were revealed, from 30.2% in 1998 to 2% in 2014, accordingly. It may be caused by demographic and chronobiological features. Occurrence of onychomycosis in the structure of emergence diseases in the career officers were as follows (absolute numbers): 3 patient of 16 (19%) in 1998; 5 of 19 (26.4%) – in 1999; 4 of 22 (18.2%) – in 2000; 5 of 52 (9.6%) – in 2001; 19 of 95 (20%) – in 2002; 11 of 73 (15%) – in 2003; 11 of 66 (16.7%) – in 2004; 11 of 66 (16.7%) – in 2005; 20 of 75 (26.7%) – in 2006; 15 of 69 (21.7%) – in 2007; 30 of 120 (25%) – in 2008; 22 of 98 (22.4%) – in 2009; 27 of 109 (24.7%) – in 2010; 20 of 166 (12.1%) – in 2011; 15 of 98 (15.4%) – in 2012; 31 of 76 (40.8%) – in 2013; 18 of 77 (23.4%) – in 2014. The incidence of onychomycosis in career officers: in 1998 – 2,8‰; in 1999 – 4‰; in 2000 – 3,8‰; in 2001 – 5‰; in 2002 – 4,5‰; in 2003 – 5,1‰; in 2004 – 6‰; in 2005 – 6,1‰; in 2006 – 11,4‰; in 2007 – 9,6‰; in 2008 – 22,5‰; in 2009 – 16,5‰; in 2010 – 34,4‰; in 2011 – 20,3‰; in 2012 – 23,4‰; in 2013 – 33‰; in 2014 – 33,4‰.

Conclusions. A new nail infection risk group was identified in this study. In this socio-age group inverse correlation between the decrease of the total number of career officers, reduction of visits and incidence rate was observed. The development of modern guidelines for diagnosis, treatment for a fungal nail infection, active preventive work and rational psychotherapy and introduction it into clinical practice are seems to be a urgent task at the present stage.

ОСОБЕННОСТИ МИКОЛОГИЧЕСКОЙ ОБСЕМЕНЕННОСТИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ВЛАГАЛИЩА У РАБОТНИЦ ПРОИЗВОДСТВА ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Гизатуллина Л.Г., Бадамшина Г.Г., Масыгутова Л.М., Григорьева Л.М.

Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека, Уфа, Россия

PECULIARITIES OF MYCOLOGICAL CONTAMINATION OF THE VAGINAL MUCOSA AT WORKERS OF IMMUNOBIOLOGICAL PREPARATIONS PRODUCTION

Gizatullina L.G., Badamshina G.G., Masyagutova L.M., Grigoryeva L.M.

Ufa Research Institute of Occupational Medicine and Human Ecology, Ufa, Russia

Работники, занятые в условиях предприятий производства иммунобиологических препаратов, подвергаются высокому риску заражения микроорганизмами, в связи с чем целью нашей работы было изучение особенностей микологической обсемененности слизистой оболочки влагалища у работников данного производства.

Методы. Микробиологическое исследование слизистых оболочек влагалища проведено 40 женщинам, занятым в производстве иммунобиологических препаратов. Первичный посев проб клинического материала осуществляли количественными и качественными методами на питательные среды: мясопептонный агар, агар Сабуро, HiCrome *Candida* агар. Идентификацию выделенных чистых культур проводили в соответствии с общепринятыми методами с использованием современных тест-систем «HiCandida набор для идентификации *Candida* spp.» (HiMedia, Индия). Результаты обрабатывали с помощью пакета программ «Microsoft Excel 2010». За норму микологической обсемененности слизистой оболочки влагалища *Candida* spp. была принята величина 10^4 КОЕ/мл, указанная в различных научных литературных источниках.

Результаты. При микробиологических исследованиях посевов со слизистых оболочек влагалища рост грибов отмечали у 50,0±8,0% работниц. При этом у всех обследованных лиц (50,0±8,0%) высевали микобиоту в составе 2-4 компонентных ассоциаций с бактериобиотой.

Среди грибов, колонизирующих слизистые оболочки влагалища, во всех случаях были идентифицированы *Candida* spp. в количестве до 10^4 КОЕ/мл включительно у 10,0±6,7% работниц, в превышающем 10^4 КОЕ/мл количестве – у 40,0±12,2%. В структуре обнаруженных грибов доминировали *C. albicans* (40,0±11,0% проб) и *C. krusei* (25,0±9,7%), несколько реже высевали *C. glabrata* (20,0±8,9%) и *C. famata* (10,0±6,7%), в единичных случаях – *C. tropicalis* (5,0±4,9%).

Заключение. В результате исследования у половины работниц выявили *Candida* spp. в виде многокомпонентных ассоциаций с бактериальной биотой, при этом у каждой третьей женщины диагностировали превышение обсемененности слизистой оболочки грибами. Это обнаруженное широкое видовое разнообразие грибов является показателем существования различных форм носительства среди работниц. Возрастание микробной численности условно-патогенных грибов, при снижении естественной резистентности организма работниц, может приводить к развитию инфекционного процесса.

Workers engaged in manufacturing immunological agents are at high risk for microbial contamination. In view of this, the purpose of the investigation was to study specificities of mycological dissemination of this enterprise workers' vaginal mucosa.

Methods. Forty women engaged in manufacturing immunological agents underwent microbiological examination of vaginal mucosa. Primary inoculation of medium of the clinical material samples was performed using quantitative and qualitative methods: mastopathy agar, the Sabouraud agar, HiCrome *Candida* agar. Isolation of pure cultures was made in accordance with the current methods using "HiCandida set for isolating *Candida* spp." modern test-systems (HiMedia, India). The results obtained were processed using the «Microsoft Excel 2010» program. Normal mycological dissemination burden of vaginal mucosa by *Candida* spp. was 10^4 CFU/ml, pointed out in the literature.

Results. Microbiological studies on vaginal mucosa inoculations showed the growth of fungi in 50,0±8,0% of workers. Mycobiota in a combination with 2-4 component associations with bacteriobiota was inoculated to all

the subjects examined (50,0±8,0%).

Among fungi in the vaginal mucosa, *Candida* spp. in the amount of 10^4 CFU/ml inclusively were isolated in 10,0±6,7% of workers, in the amount exceeding 10^4 CFU/ml – in 40,0±12,2%. In the structure of fungi isolated, *C. albicans* (40,0±11,0% samples) and *C. krusei* (25,0±9,7%) dominated. *C. glabrata* (20,0±8,9%) and *C. famata* (10,0±6,7%) were less isolated. In a few cases *C. tropicalis* (5,0±4,9%) were isolated.

Conclusion. The study results showed that *Candida* spp. in the form of multicomponent associations with bacterial biota were isolated in 50 % of workers. Exceeded dissemination in vaginal mucosa was diagnosed in every third women. This species variety of isolated fungi is an indicator of diverse carriage forms among workers. An increase in microbial population of conditionally pathogenic fungi with a decrease in natural resistance of the workers' bodies can lead to the development of an infectious process.

ЭКЗОМЕТАБОЛИТЫ ASPERGILLUS NIGER КАК ФАКТОРЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРИ ОТОМИКОЗАХ

Глушко Н.И., Халдеева Е.В., Лисовская С.А., Баязитова А.А.

Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии, Казань, Россия

EXOMETABOLITES OF ASPERGILLUS NIGER AS INFLUENCE FACTORS AT OTOMYCOSIS

Glushko N.I., Khaldeeva E.V., Lisovskaya S.A., Bayazitova A.A.

Kazan research institute of epidemiology and microbiology, Kazan, Russia

Грибы рода *Aspergillus*, в том числе *Aspergillus niger*, являются одной из основных причин отомикозов. Симптомы этого заболевания (зуд, болезненность, наличие выделений) существенно снижают качество жизни пациентов, особенно, учитывая его длительный характер. В связи с этим представляет интерес оценить роль экзометаболитов гриба, в частности, кислот, протеолитических ферментов и токсинов, как факторов воздействия на организм при отомикозах.

Цель работы – изучить кислотообразование, протеолитическую активность, токсинообразующую способность клинических штаммов *A. niger*.

Материалы и методы. В работе использовали 8 клинических штаммов *A. niger*, выделенных у больных отомикозами, и контрольный штамм У-1 из коллекции Уфимского НИИВС. Определяли pH культуральной жидкости, ее протеолитическую активность в тесте с ЧСА, присутствие токсинов в культуральной жидкости и экстракте биомассы методом тонкослойной хроматографии.

Результаты. Изученные штаммы были разделены на две группы: 5 штаммов, выделенных в монокультуре, от больных с длительным (более года) течением заболевания и 3 штамма – от больных с заболеванием длительностью менее 1 года. Штаммы второй группы были выделены в микст-биоценозе совместно с бактериобиотой, а в одном случае – совместно с *Candida albicans*. Установлено, что штаммы первой группы продуцировали большее количество кислот (в основном, лимонной), причем более низкие значения pH культуральной жидкости (3,0 и 3,5) отмечали в случае 2 штаммов, выделенных от больных с выраженными болевыми симптомами. В остальных случаях pH варьировал в диапазоне 4,0-5,1, и наиболее высокое значение наблюдали у штамма, выделенного совместно с *C. albicans*. Протеолитическая активность культуральной жидкости 2 штаммов второй группы была существенно (в 4-8 раз) ниже, чем у контрольного штамма и штаммов первой группы, хотя у одного из штаммов второй группы установили значения, близкие к контрольному штамму. При исследовании токсинообразующей способности выявили, что экстракты биомассы 3 штаммов первой группы содержали афлатоксиноподобные метаболиты, причем в случае одного из этих штаммов токсины обнаруживали также в культуральной жидкости.

Заключение. Показано, что клинические штаммы *A. niger* отличаются по способности продуцировать экзометаболиты, которые могут воздействовать на кожные покровы при отомикозах.

Fungi of the genus *Aspergillus*, including *Aspergillus niger*, are a major cause of otomycosis. Symptoms of the disease (itching, pain, presence of secretions) significantly reduce the quality of life of patients, particularly in view of its long-term nature. In this regard it is of interest to evaluate the role of the fungus exometabolites, particularly acids and toxins, proteolytic enzymes as factors affecting the skin at otomycosis.

Purpose - to study the acid production, proteolytic activity, ability of

toxins production of clinical strains *A. niger*.

Materials and methods. Eight clinical strains of *A. niger*, isolated from patients with otomycosis, and control strain Y-1 from the collection of Ufa NIIVS were used. The pH of the culture media, its proteolytic activity in the test with HSA and the presence of toxins in the culture media and biomass extracts by thin layer chromatography were determined.

Results. The studied strains were divided into two groups: five isolated in monoculture from patients with long-term (more than one year) disease and 3 strains from patients with disease duration of less than one year. Strains of the second group were isolated in the mixt-cultures together with bacteria, and in one case – together with *Candida albicans*. It was established that the first group of strains produced more acids (mainly citric) and the lowest pH of the culture liquid (3.0 and 3.5) were observed in the cases of two isolates from patients with severe pain symptoms. In other cases, the pH varied in the range of 4.0-5.1, and the highest value was observed for the strain isolated together with *C. albicans*. The proteolytic activity of the culture liquid of 2 strains of the second group were significantly (4-8 fold) lower than for the control strain and strains of the first group, although one strain of the second group shows values close to the reference strain. Investigation of toxigenic ability revealed that the biomass extracts of three strains from the first group contained aflatoxin-related metabolites, and in the case of one of these strains, toxin was found in the culture medium.

Conclusion. It is shown that clinical strains *A. niger* differ in their ability to produce exometabolites, which can affect the skin at otomycosis.

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ БАКТЕРИОФАГА НА АДГЕЗИЮ БАКТЕРИЙ РОДА *ENTEROBACTER*

Годовалов А.П., Быкова Л.П., Бакланова Ю.Ю.

Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера МЗ России, Пермь, Россия

THE INVESTIGATION OF BACTERIOPHAGE ACTION ON BACTERIA OF THE GENUS *ENTEROBACTER* ADHESION

Godovalov A.P., Bykova L.P., Baklanova Yu.Yu.

Acad. E.A. Wagner Perm State Medical University, Perm, Russia

В микробной клетке функцию распознавания и связывания с клетками-мишенями выполняют адгезины, которые обеспечивают начальный этап инфекции. С ростом применения бактериофагов в клинической практике возникла необходимость исследования их влияния на адгезивные свойства возбудителя.

Цель исследования – определить способность бактериофага изменять адгезивные свойства бактерий рода *Enterobacter*.

Материалы и методы. Материалом для исследования служили клинический изолят *Enterobacter sakazaki*, бактериофаг энтеробактер поливалентный очищенный. Адгезивные свойства определяли по методике (Брилис и др., 1986; Pacheco, et al., 1997). Для статистической обработки использовали парный вариант *t*-критерия Стьюдента.

Результаты. Для исследования брали буккальный эпителий у 11 некурящих добровольцев. Для опытной пробы взвесы бактерий в концентрации 10^8 КОЕ/мл смешивали с раствором бактериофага. Инкубацию осуществляли при 37 °С. После этого смешивали в равных объемах данную взвесы и эпителиоциты, инкубировали при 37 °С 20 минут. В контрольной пробе вместо бактериофага использовали физиологический раствор NaCl. По окончании инкубации готовили препараты для микроскопии. При учете результатов определяли процент клеток, имеющих на своей поверхности адгезированные бактерии. Результатами исследования показано, что в контрольной пробе число клеток без адгезированных бактерий составило $0,33 \pm 0,17\%$, а с адгезированными бактериями – $99,67 \pm 0,17\%$. В опытной пробе – $1,82 \pm 0,68\%$ и $98,18 \pm 0,68\%$ соответственно ($p < 0,05$, при сравнении между клетками с адгезированными и неадгезированными бактериями).

Заключение. Таким образом, выявили статистически значимое ингибирующее влияние бактериофага на адгезивные свойства бактерий рода *Enterobacter*.

There are adhesins in microbial cells. Its function is to provide recognition and attachment to target cells. Adhesins provides the initial stage of infection. Nowadays using of bacteriophages in clinical practice is increasing that is why to study their effect on the adhesive properties of

the pathogen is necessary.

The aim of the research was to determine the ability of the bacteriophage to change adhesive properties of bacteria of the genus *Enterobacter*.

Materials and methods. Clinical isolate *Enterobacter sakazaki* and bacteriophage *Enterobacter* served as a material for the research. Adhesive properties were determined using the method (Brilis et al., 1986; Pacheco, et al., 1997). Paired version of Student *t*-test was used for statistical analysis.

Results. Human buccal epithelial cells were obtained from 11 healthy adult donors by swabbing the buccal mucosa with a sterile cotton-tipped swab. The suspension of bacteria 10^8 CFU/ml was mixed with bacteriophage for the experimental group. The mixture was incubated at 37 °C. After that equal volumes of a mixture and human buccal epithelial cells were mixed and incubated for 20 minutes at 37 °C. Solution of NaCl was used instead of bacteriophage for the control group. After the incubation preparations were made for microscope. By determining the coefficient of adhesion assessed the impact of the number of cells with adhesion. In the control group the number of cells with adhesion is $99,67 \pm 0,17\%$ and without adhesion – $0,33 \pm 0,17\%$. In the experimental group the number of cells without adhesion is $1,82 \pm 0,68\%$ and with adhesion – $98,18 \pm 0,68\%$ ($p < 0,05$).

Conclusion. It has been established that using the bacteriophage leads to inhibition of adhesion activity of bacteria of the genus *Enterobacter*.

ОПСОНИЗАЦИЯ *CANDIDA ALBICANS* ИММУНОГЛОБУЛИНОМ ДЛЯ ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ

Годовалов А.П., Быкова Л.П., Шестакова А.В.

Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера МЗ РФ, Пермь, Россия

CANDIDA ALBICANS OPSONIZATION BY INTRAVENOUS IMMUNOGLOBULIN

Godovalov A.P., Bykova L.P., Shestakova A.V.

Acad. E.A. Wagner Perm State Medical University, Perm, Russia

Среди многочисленных видов иммунотропной терапии использование препаратов иммуноглобулинов (Ig) имеет ведущее значение. Одной из функций Ig является опсонизация клеточных элементов.

Цель исследования – изучение влияния Ig для внутривенного введения («Октагам») на показатели фагоцитарной активности лейкоцитов периферической крови здоровых доноров.

Материалы и методы. В качестве объекта фагоцитоза применяли взвесы *Candida albicans*. Для моделирования иммуномодулирующего действия использовали опсонизированные и неопсонизированные клетки *C. albicans*. Опсонизацию проводили с помощью коммерческого препарата «Октагам», содержащего IgG с широким спектром специфических Ig против комплекса микроорганизмов. Рабочая концентрация препарата по IgG составила 20 мг/мл. Учет результатов осуществляли микроскопически, подсчитывая показатели фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов отдельно. Для статистической обработки применяли парный вариант *t*-критерия Стьюдента.

Результаты. Число нефагоцитирующих лейкоцитов при использовании не опсонизированных *C. albicans* составило $4503,16 \pm 500,82$ в 1 мкл, а с опсонизированными *C. albicans* – $4105,39 \pm 480,20$ в 1 мкл ($p < 0,05$). Показано, что при применении опсонизированных объектов число активно фагоцитирующих лейкоцитов статистически значимо выше, чем в пробах с не опсонизированными *C. albicans*. Выявленные изменения фагоцитарной активности лейкоцитов коснулись, в первую очередь, нейтрофилов. Опсонизация *C. albicans* статистически значимо не влияет на показатели фагоцитарной активности моноцитов.

Заключение. Использование препаратов внутривенных иммуноглобулинов помогает эффективно стимулировать фагоцитарную активность преимущественно нейтрофильных лейкоцитов в отношении *C. albicans*.

Among the many types of immunotropic therapies use of immunoglobulin (Ig) has the leading role. One of the Ig functions is cellular elements opsonization.

The purpose of research was the study of the intravenous Ig

("Octagam") effect on the phagocytic activity of leukocytes in peripheral blood of healthy donors.

Materials and methods. *Candida albicans* was used as phagocytosis object. For modeling immunomodulatory actions opsonized and non-opsonized *C. albicans* cells were used. Opsonization performed using a commercial formulation "Octagam", containing a IgG with broad spectrum of specific Ig against complex of microorganisms. The working concentration of the drug by IgG was 20 mg/ml. Records of the results was performed microscopically by calculating the phagocytic activity of neutrophils and monocytes separately. Statistical analysis used by paired version of the Student *t*-test.

Results. The number of non-phagocytizing leukocytes for non-opsonized *C. albicans* was $4503,16 \pm 500,82$ per μl , and with opsonized *C. albicans* - $4105,39 \pm 480,20$ per μl ($p < 0,05$). It is shown that when using the opsonized sites of active phagocytic leukocytes number was significantly higher than in samples with non-opsonized *C. albicans*. The revealed phagocytic activity changes of leukocytes affected primarily neutrophils. *C. albicans* opsonization was not significantly effect on the performance of the phagocytic activity of monocytes.

Conclusion. Using intravenous immunoglobulin helps to effectively stimulate the phagocytic activity of neutrophils mainly in respect of *C. albicans*.

УЛЬТРАСТРУКТУРА ПОРОВОГО АППАРАТА СЕПТ КЛЕТОК ВЕГЕТАТИВНОГО МИЦЕЛИЯ *FUSARIUM PROLIFERATUM* (MATSUSH.), ВЫРАЩЕННОГО IN VITRO

Голубева О.А., Степанова А.А.

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

ULTRASTRUCTURE OF THE GROWING IN VITRO CELLS OF VEGETATIVE MYCELIUM OF *FUSARIUM PROLIFERATUM* (MATSUSH.)

Golubeva O.A., Stepanova A.A.

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

Fusarium proliferatum (Matsush) поражает рис, сахарный тростник, фасоль, сою и кукурузу. Он также наносит большой ущерб цветоводству, поражая орхидеи. Оптимальным условием для развития этого вида гриба является влажная почва. Употребление в пищу зерна, загрязненного микотоксинами *F. proliferatum*, может привести к развитию рака пищевода, микотоксикоза, бронхиальной астмы, аллергического ринита, септического артрита, эндофтальмита, остеомиелита, онихомикоза, цистита, отита и синусита.

Цель настоящего исследования – изучить особенности строения порового аппарата септ *F. proliferatum* у клеток вегетативного мицелия, выращенного в культуре.

Материал и методы. Культуру *F. proliferatum* (штамм 58435 из коллекции микроорганизмов лаборатории Миф ВИЗР, г. Пушкин) выращивали в чашках Петри на картофельно-сахарозной агаризированной среде в термостате при 24 °С. Небольшие кусочки с разных частей 10-ти и 20-дневных культур гриба фиксировали 3 часа 3% раствором глутаральдегида, приготовленном на какодилатном буфере, затем промывали сходным буфером и пост фиксировали 6 часов в 1% растворе осмиевой кислоты по стандартной методике. Ультратонкие срезы исследовали в трансмиссионном электронном микроскопе Jem 100CX (JEOL, Япония)

Результаты. Клетки гиф погруженного и воздушного мицелия имели клеточную стенку толщиной, в среднем, 0,31 мкм. Она двухслойная, с наружным темным гомогенным тонким (в среднем, 0,07 мкм) и внутренним светлым тонко-гранулярным широким (в среднем, 0,24 мкм) слоями. Гифы снабжены прямыми однослойными светлыми септами толщиной, в среднем, 0,24 мкм. В центре септы – сквозная септальная пора со средним диаметром 0,34 мкм. В составе порового аппарата септ отмечали тельца Воронина (ТВ), диафрагмы и пробки. Число ТВ на медианном срезе септы варьировало от 2 до 4. Они имели эллипсоидную форму, диаметром, в среднем, 0,53х0,68 мкм. Матрикс ТВ гомогенный, умеренной электронной плотности. Ограничивающая их мембрана проявляла высокий контраст. Диафрагмы наблюдали довольно часто в сочетании с ТВ.

Они одиночные, прямые или полусферические, тонкие и электронно-плотные. Крайне редко в содержимом септальных пор стареющих клеток гиф выявляли крупную темную плотную пробку в форме шкива или неправильной формы.

Выводы. Для клеток вегетативного мицелия *F. proliferatum* характерно наличие двухслойных латеральных клеточных стенок, 4-х крупных темных эллипсоидальной формы ТВ. Полученные данные ультраструктуры порового аппарата септ могут быть использованы для идентификации *F. proliferatum* как *in vitro*, так и *in vivo*.

Fusarium proliferatum (Matsush) affected rice, sugar cane, beans, soy and corn. He also does great harm to the floriculture, amazing orchids. The optimal condition for the development of this fungus is moist soil. Consumption of grains contaminated with *F. proliferatum* mycotoxins can generate the cancer of the esophagus, mycotoxicosis, bronchial asthma, allergic rhinitis, septic arthritis, endophthalmitis, osteomyelitis, onychomycosis, cystitis, otitis and sinu-sitis.

The aim of this study was the ultrastructural investigations of the septal pore apparatus in the cells of the vegetative mycelium of *F. proliferatum*, growing *in vitro*.

Material and methods. The culture of *F. proliferatum* (strain 58435 from the collection of microorganisms of VIZR, Pushkin) was grown in Petri dishes on potato-sucrose medium in at 24 °C. Small pieces from different parts of the 10-year and 20-day old fungal cultures was fixed 3 hours in 3% solution of glutaraldehyde and post fixed 6 hours in a 1% solution of osmium acid by standard methods. Ultrathin sections were examined in transmission electron microscope Jem 100CX (JEOL, Japan)

Results. The cells of the submerged and aerial mycelium had the cell wall with thickness on average – 0,31 μm . They was double layered, with an outer dark homogeneous thin (0,07 μm) and internal light finely-granular wide (0,24 μm) layers. Hyphal cells separated with a straight single-layer light septa with thickness 0,24 μm . The central septal pore was with diameter 0,34 μm . In the pore apparatus we revealed the Woronin bodies, diaphragms and plugs. The number of Woronin bodies on the median section of septa varied from 2 to 4. They ellipsoidal in shape, with a diameter 0,68 μm . For Woronin bodies were typical homogeneous, moderate electron density matrix. Limiting their membrane showed high contrast. The diaphragm was observed quite often in combination with Woronin bodies. They are solitary, straight or hemispherical, thin and electron-dense. Extremely rare in the contents of septal pores aging cells hyphae revealed large, dark, variable in the size and shape plugs.

Resume. For the cells of the vegetative mycelium of *F. proliferatum* were typical the presence of two-layer lateral cell walls, 4 large dark ellipsoidal Woronin bodies, diaphragms and plugs in composition of septal pore apparatus. The obtained data about ultrastructure of the septal pore apparatus may be used to identification of *F. proliferatum* *in vitro* and *in vivo*.

БИОРАЗНООБРАЗИЕ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА «МАЛОЛЯХОВСКОГО МАМОНТА» (*MAMMUTHUSPRIMI GENIUS*)

Гончаров А.Е., Гордеева Л.В., Шалыпина Н.А., Колодзиева В.В., Зуева Л.П., Машарский А.Э., Карасева А.И., Суворов А.Н., Ахременко Я.А., Тарасова Л.А., Григорьев С.Е.

Северо-западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова МЗ России Санкт-Петербург; Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург; Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург; Северо-восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Якутск, Россия

BIODIVERSITY OF MICROBIAL COMMUNITIES OF THE DIGESTIVE TRACT OF «MALOLYAHOVSKIY MAMMOTH» (*MAMMUTHUSPRIMI GENIUS*)

Goncharov A.E., Gordeeva L.V., Chaliapina N.A., Kolodzhieva V.V., Zueva L.P., Masharskiy A.E., Karaseva A.I., Suvorov A.N., Akhremenko Y.A., Tarasova L.A., Grigor'ev S.E.

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg; Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg; St. Petersburg State University, St. Petersburg; North-Eastern Federal University named after M.K. Ammosov, Yakutsk, Russia

Изучение древних прокариот – своеобразных «живых ископаемых», обнаруживаемых в вечной мерзлоте или организмах вымерших животных, представляет в настоящее время большой теоретический и практический интерес в связи с возможностью реконструкции путей эволюции отдельных таксонов, изучения биологического разнообразия древних экосистем, оценки потенциальной патогенности древних микроорганизмов для человека и животных.

Цель работы – оценить биологическое разнообразие и таксономический состав культивируемых и некультивируемых традиционными микробиологическими методами прокариот в палеонтологическом материале, представленном фрагментами тканей и содержимым пищеварительного тракта шерстистого мамонта.

Методы исследования. Провели микробиологические исследования и метагеномное секвенирование V4-вариантного участка генов 16S rRNA образцов палеонтологического материала (пищеварительный тракт самки мамонта, возраст находки – 43000±3000 лет).

Результаты. Наиболее представленными по данным метагеномного секвенирования оказались семейства *Pseudomonadaceae*, *Lactobacillaceae*, *Streptococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Ruminococcaceae*, *Clostridiaceae*. Идентифицированы последовательности с высокой степенью гомологии к современному роду *Mycobacterium*. Выделено 8 изолятов жизнеспособных бактерий, отнесенных по данным секвенирования 16S-рибосомального оперона к родам *Enterococcus* sp., *Carnobacterium* sp., *Arthrobacter* sp.

Заключение. При идентификации типичных для пищеварительного тракта современных травоядных животных целлюлозолитических таксонов и таксонов, представленных анаэробными видами (клостридии), можно предположить, что изученное микробное сообщество является аутохтонным, а не сформировано контаминирующими видами микроорганизмов. Особый интерес представляют углубленные исследования биологических свойств выделенных штаммов энтерококков и карнобактерий, учитывая их филогенетическое родство современным микроорганизмам – возбудителям инфекций человека.

БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ СТАФИЛОКОККОВ, ИЗОЛИРОВАННЫХ В УСЛОВИЯХ ПТИЦЕФАБРИКИ

Гордина Е.М., Горовиц Э.С., Лемкина Л.М.

Пермский государственный медицинский университет, Пермь, Россия

BIOFILM FORMATION OF STAPHYLOCOCCI ISOLATED IN THE POULTRY PLANT

Gordina E.M., Gorovitz E.S., Lemkina L.M.

Perm State Medical University, Perm, Russia

Стафилококки способны выживать при различных неблагоприятных воздействиях, так как обладают рядом факторов персистенции. К их числу относят биопленкообразование, которое является способом существования бактерий и одним из ведущих механизмов сохранения жизнеспособности микробов.

Цель – сравнительная оценка количества физиологически активных клеток в составе биопленок стафилококков, выделенных в условиях птицефабрики от сотрудников и птиц.

Материалы и методы. Выполнено традиционное бактериологическое обследование 53 сотрудников и более 600 проб патологического материала птиц. Материалом для исследования служили, соответственно, мазки со слизистой оболочки носа и зева и внутренние органы. Биопленкообразование изучали общепринятым способом. Для определения количества живых клеток в биопленках в лунки вносили тетразолий MTS (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-5-(3-карбоксиметоксифенил)-2-(4-сульфобензил)-2H-тетразолий), согласно инструкции производителя. Детекцию интенсивности окраски проводили на спектрофотометре при длине волны 490 нм в единицах оптической плотности. Результаты обрабатывали статистически с использованием *p*-критерия Манна-Уитни.

Результаты. Всего выделено 27 штаммов *S. aureus* (10 от сотрудников) и 443 штамма коагулазо-негативных стафилококков (КНС) (116 от сотрудников). Практически все изученные штаммы стафилококков были способны к биопленкообразованию. Биопленки, сформированные «птичьими» изолятами КНС, содержали существенно большее количество живых клеток, в сравнении со штаммами *S. aureus* (2,01±0,43 и 0,99±0,24 соответственно, *p*=0,0007). В то же время, штаммы *S. aureus*, изолированные от сотрудников, отличались большим количеством живых клеток в биопленке, в сравнении с культурами этого вида, выделенными от птиц (2,22±0,70 и 0,99±0,24, *p*=0,0005).

Заключение. Таким образом, среди «птичьих» штаммов с высокой выживаемостью отличались представители КНС. В свою очередь, культуры *S. aureus*, изолированные от сотрудников, характеризовались большим количеством вегетирующих клеток в составе биопленок, чем изоляты этого вида от птиц.

Staphylococci can survive in various adverse effects, as they have a number of persistence factors. These include biofilm formation, which is the mode of existence of bacteria and one of the leading mechanisms for preserving the viability of microorganisms.

The aim – the comparative assessment of the amount of physiologically active cells in the composition of biofilms of staphylococci isolated from staff and chickens.

Materials and methods. We performed a traditional bacteriological examination of 53 employees and over 600 samples of pathologic material of birds. The materials for the study were, respectively, smears from nasal and pharynx mucosa and internal organs. Biofilm formation was carried out using the traditional method. To study the number of living cells in biofilms tetrazolium MTS (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymetoxifenil)-2-(4-sul'fofenil)-2H-tetrazolii) was added into the plate according to the manufacturer's instructions. The detection of the colour intensity was performed by a spectrophotometer at the wavelength of 490 nm in units of optical density. Statistical analysis of the results was performed using *p* – Mann-Whitney test.

Results. As a result of the bacteriological research we isolated 27 strains of *S. aureus* (10 from the staff) and 443 strains of coagulase-negative staphylococci (CNS) (116 from the staff). All strains of *S. aureus* formed biofilms. Biofilms formed by "bird" isolates of CNS contained a significantly greater number of living cells in comparison with strains of *S. aureus* (2,01±0,43 0,99±0,24 and, respectively, *p*=0.0007). At the same time, strains of *S. aureus*, isolated from the staff had a large number of living cells in the biofilm, in comparison with cultures of this species isolated from birds (2,22±0,70 and 0,99±0,24, *p* = 0.0005).

Conclusion. Thus, among "bird" strains of high survival the most significant were ANC representatives of CNS. In turn, the cultures of *S. aureus* isolated from the staff were characterized by a large number of vegetative cells in composition of biofilms than isolates of this type from birds.

СТРУКТУРА И АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАНЕВОГО ОТДЕЛЯЕМОГО ПАЦИЕНТОВ В КАРДИОХИРУРГИЧЕСКОМ СТАЦИОНАРЕ

Граничная Н.В.¹, Пятко В.Э.¹, Зайцева Е.А.²

¹Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии, Хабаровск; ²Тихоокеанский государственный медицинский университет МЗ РФ, Владивосток, Россия

STRUCTURE AND ANTIBIOTIC RESISTANCE OF CLINICAL ISOLATES TAKEN FROM WOUND DISCHARGE PATIENTS IN CARDIAC SURGERY HOSPITAL

Granichnay N.V.¹, Pyatko V.E.¹, Zaitseva E.A.²

¹Federal center of cardiovascular surgery, Khabarovsk; ²Pacific state medical university, Vladivostok, Russia

Цель исследования – определить этиологический спектр и уровень антибиотикорезистентности микроорганизмов, выделенных из клинического материала пациентов, перенесших операции на сердце.

Материалы и методы. В исследование включены изоляты микроорганизмов (n = 40), полученные из 238 проб клинического материала (раневого отделяемого, n = 172; мазки с переднего средостения, n = 46; ложа электрокардиостимуляторов, n = 20) пациентов кардиохирургического стационара за 2014 год. Идентификацию культур и определение чувствительности к антимикробным препаратам проводили с помощью микробиологического анализатора Vitek 2 compact фирмы Биомерье. Статистическую обработку данных выполняли с помощью программного обеспечения «Система микробиологического мониторинга «Микроб-2».

Результаты. При исследовании клинического материала выделены микроорганизмы 8 видов: *Staphylococcus epidermidis* – 65%, *S. haemolyticus* – 7,5%, *Proteus mirabilis* – 7,5%, *Candida albicans* – 5%, *Klebsiella pneumoniae* – 2,5%, *Morganella morganii* – 2,5%, *Sphingomonas paucimobilis* – 2,5%, микрококки – 7,5%. Все микроорганизмы обнаружили в монокультуре. *S. epidermidis* выделяли из послеоперационной раны в 80% случаев, операционной раны – в 11,5%, переднего средостения – в 7,6%. Из всех изолированных эпидермальных стафилококков 80% – метициллин-резистентные. Обращает внимание выявление из отделяемого послеоперационных ран *S. haemolyticus* с высоким уровнем резистентности почти ко всем группам антибиотиков (бета-лактамам, макролидам, линкозамидам), установлена чувствительность в 100% случаев только к препаратам резерва – тигециклину, линезолиду, ванкомицину. Из отделяемого ложа электрокардиостимуляторов изолировали *K. pneumoniae* и микрококки, из раневого отделяемого послеоперационных ран – культуры *M. morganii*, *P. mirabilis*, *C. albicans* и *S. paucimobilis* с обычной чувствительностью к антимикробным препаратам.

Заключение. Доминирующими возбудителями инфекций, выделенных из послеоперационной раны пациентов, перенесших операции на сердце, являются метициллинрезистентные штаммы *S. epidermidis* (MRSE). Полученными результатами показана необходимость учитывать данные локального микробиологического мониторинга для назначения антибактериальной терапии.

The present research was aimed to determine etiologic spectrum and level of antibiotic resistance of microorganisms isolated from clinical specimens of cardio surgery patients.

Materials and methods. Isolates of microorganisms (n=40) were obtained from 238 samples of clinical material (172 wound effluent, smears anterior mediastinum, n= 46; 20 pacemaker pockets) cardio surgery patients during 2014.

The identification of cultures and their antibiotic susceptibility were carried out using "Microbiological analyzer "Vitek 2 compact" Biomerie company. For the statistical processing of the data the software "System microbiological monitoring Mikrob - 2" was used.

Results. 8 species of microorganisms were identified in the process

of study of clinical materials: *Staphylococcus epidermidis* – 65%, *S. haemolyticus* – 7,5%, *Proteus mirabilis* – 7,5%, *Candida albicans* – 5%, *Klebsiella pneumoniae* – 2,5%, *Morganella morganii* – 2,5%, *Sphingomonas paucimobilis* – 2,5%, *Micrococcus* – 7,5% revealed.

All microorganisms were in monoculture. *S. epidermidis* was isolated from the 80% of postoperative wound, from incisional the wound – in 11,5%, from the anterior mediastinum – in 7,5%. The 80% isolated *S. epidermidis* – are methicillin resistant. Identification of surgical wounds contributes to the discovery of *S. haemolyticus* with a high resistance rate against all groups of antibiotics (beta lactams, macrolides, lincosamides). 100% antibiotic susceptibility was shown only to salvage therapy antibiotics such as tigecycline, linezolid and vancomycin. *K. pneumoniae* and micrococcus isolated from the pacemaker pocket effluent, and *M. morganii*, *P. mirabilis*, *C. albicans* and *S. paucimobilis* isolated from postoperative wound effluent has shown the average susceptibility.

Conclusion. The predominant pathogens isolated from the cardio surgery patients postoperative wounds were methicillin-resistan strains of *S. epidermidis* (MRSE). The obtained results showed the necessity to take into account the data of local microbial monitoring for antimicrobial medicine prescription.

СТРУКТУРА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЭТИОЛОГИИ НА ТЕРРИТОРИИ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА В 2009-2014 ГГ.

Григорьева Н.С., Кича Е.В., Черепанова Н.В., Свищевская В.А., Иванова В.В.

Центр гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербург, Россия

THE STRUCTURE OF THE CAUSATIVE AGENTS OF ACUTE INTESTINAL INFECTIONS OF BACTERIAL ETIOLOGY IN THE TERRITORY OF ST. PETERSBURG CITY IN 2009-2014

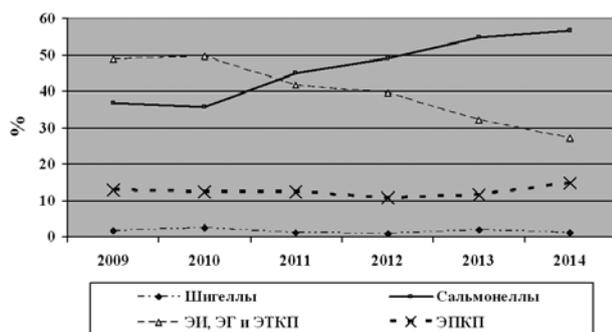
Grigoryeva N.S., Kicha E.V., Cherepanova N.V., Svirshchevsia V.A., Ivanova V.V.

Sanitary and Epidemiological Center in the city of St. Petersburg, Russia

Цель исследования – мониторинг возбудителей острых кишечных инфекций (ОКИ) в городе Санкт-Петербурге.

Материалы и методы. Штаммы микроорганизмов возбудителей ОКИ выделяли от переболевших пациентов, бактерионосителей, обследованных лиц по контакту и с профилактической целью. Всего за период 2009-2014 годов было выявлено и проанализировано 13066 культур. Исследование и идентификацию проводили в соответствии с МУ МЗ СССР 04/723/3 от 1984 г. «Методические указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями».

Результаты. При анализе выделенных микроорганизмов установили, что в период с 2009 по 2010 гг. ведущую роль занимала группа кишечных палочек, включающая в себя энтероинвазивные (ЭИ), энтерогеморрагические (ЭГ) и энтеротоксигенные кишечные палочки (ЭТКП). Второе место принадлежало сальмонеллам, третье – энтеропатогенным кишечным палочкам (ЭПКП), четвертое – шигеллам (из них 80% – *S. sonnei* II ферментативного типа). На границе 2010-2011 гг. и по 2014 г. включительно, мы наблюдали смену «лидера» ОКИ бактериальной этиологии – первенство принадлежало сальмонеллам; ЭИ, ЭГ и ЭТКП переместились на второе место, стабильность в распределении «ролей» отмечали по ЭПКП и шигеллам.



ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНОГО (1-АДАМАНТИЛ)-ФЕНОЛА ЮК-23 НА ФОРМИРОВАНИЕ БИОПЛЕНОК *CANDIDA ALBICANS*

Гриневич С.В.¹, Врынчану Н.А.¹, Суворова З.С.¹, Дудикова Д.М.¹, Титаренко С.Н.²

¹Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины;

²Национальный институт хирургии и трансплантологии им. А.А. Шалимова НАМН Украины, Киев, Украина

THE EFFECT OF (1-ADAMANTYL)-PHENOL DERIVATIVE UK-23 ON *CANDIDA ALBICANS* BIOFILM FORMATION

Grinevich S.V.¹, Vrynchanu N.A.¹, Suvorova Z.S.¹, Dudikova D.M.¹, Titarenko S.N.²

¹Institute of Pharmacology and Toxicology of NAMS of Ukraine; ²A.A. Shalimov National Institute of Surgery and Transplantology of NAMS of Ukraine, Kiev, Ukraine

Цель – изучить способность производного (1-адамантил)-фенола ЮК-23 нарушать пленкообразование *Candida albicans*.

Материалы и методы. Антифунгальную активность соединения ЮК-23 оценивали по показателю минимальной ингибирующей концентрации (МИК) и по способности предупреждать формирование биопленок. МИК определяли методом серийных микроразведений в жидкой питательной среде Сабуро. Способность соединения ЮК-23 нарушать пленкообразование *C. albicans* 86 изучали в 96-луночных планшетах. Плотность инокулята составляла 10⁶ грибных элементов на 1,0 мл. Соединение ЮК-23 исследовали в концентрациях 1,0 МИК, 2,5 МИК и 5,0 МИК. Планшеты помещали в термостат (37 °С). Через 24 ч содержимое лунок удаляли, окрашивали лунки раствором генцианвиолета и экстрагировали 96,0% этанолом. Интенсивность окрашивания спирта регистрировали на анализаторе Absorbance Microplate Reader ELx800 (BioTeK, США), длина волны – 630 нм.

Результаты. МИК соединения ЮК-23 в отношении *C. albicans* 86 составляет 0,5 мкг/мл. Выявили, что вещество ЮК-23 в концентрации 1,0 МИК подавляет пленкообразование дрожжеподобного гриба на 6,0%. При увеличении концентрации соединения ингибирующая активность повышается и составляет: при концентрации 2,5 МИК – 55,0%, при 5,0 МИК – 82,0%, в сравнении с контролем.

Выводы. Производное (1-адамантил)-фенола ЮК-23 дозозависимо препятствует образованию биопленки *C. albicans*. Полученные данные служат показателем перспективности дальнейшего поиска активных в отношении биопленок соединений среди производных (1-адамантил)-фенола.

СОСТОЯНИЕ КИШЕЧНОЙ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ У КРЫС ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ПРОБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ *LACTOBACILLUS FERMENTUM Z* И *ENTEROCOCCUS FAECIUM L3*

Громова Л.В.¹, Дмитриева Ю.В.¹, Алексеева А.С.¹, Ермоленко Е.И.², Груздков А.А.¹

¹Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, ²Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

INTESTINAL DIGESTIVE SYSTEM CONDITION IN RATS AFTER ADMINISTRATION OF PROBIOTIC BACTERIA *LACTOBACILLUS FERMENTUM Z* AND *ENTEROCOCCUS FAECIUM L3*

Gromova L. V.¹, Dmitrieva Y.V.¹, Alekseeva A. S.¹, Ermolenko E. I.², Gruzdov A. A.¹

¹I. P. Pavlov Institute of Physiology, RAS, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia

Цель работы – оценить активность кишечных пищеварительных ферментов у крыс после введения пробиотических бактерий *Lactobacillus fermentum Z* и *Enterococcus faecium L3*.

Материалы и методы. Активности ферментов определяли в 8 группах крыс, которым 3 и 7 дней в/ж вводили бактерии *Lactobacillus fermentum Z* (гр. *L.f.1*, *L.f.2*) или молоко (гр. *K1*, *K2*), или 7 и 14 дней бактерии *Enterococcus faecium L3* (гр. *E.f.1*, *E.f.2*) или молоко (гр. *K3*, *K4*).

Результаты. Через 3 дня после введения *L. fermentum Z* (гр. *L.f.1*) масса слизистой оболочки в тонкой кишке была ниже, чем в контроле *K1*, а через 7 дней (гр. *L.f.2*) – выше, чем в контроле *K2*, в тонкой и толстой кишке. Через 14 дней после введения *E. faecium L3* (гр. *E.f.2*) масса слизистой оболочки увеличилась по сравнению с *K4* в тонкой кишке и уменьшилась – в толстой. В гр. *L.f.1* в слизистой оболочке тонкой кишки снизились по сравнению с *K1* активности глюкоамилазы (ГА) и мальтазы (М). В химусе тонкой кишки возросли активности ГА, М, лактазы (Л), в химусе всех отделов кишки – щелочной фосфатазы (ЩФ), в химусе толстой кишки снизились активности аминопептидазы М (АП) и глицил-L-лейциндипептидазы (ГЛ). В гр. *L.f.2* повысились, по сравнению с *K2*, активности М и ЩФ в слизистой оболочке тонкой кишки и ГЛ – в химусе. В гр. *E.f.1* в слизистой оболочке были снижены активности М и ЩФ в тонкой кишке и повышена активность ЩФ – в толстой, по сравнению с *K3*. В химусе увеличилась, по сравнению с *K3*, активность АП в тонкой и толстой кишках и активность ГЛ – в тонкой. В гр. *E.f.2* повысилась, по сравнению с *K4*, активность ГЛ в слизистой оболочке тонкой кишки, снизились активности ЩФ в химусе тонкой и толстой кишок и ГЛ – в химусе тонкой.

Заключение. Введение крысам пробиотических бактерий *L. fermentum Z* и *E. faecium L3* вызывает изменение массы слизистой оболочки и активности пищеварительных ферментов в кишечнике. Изменения специфичны для конкретного пробиотика и сильнее всего (по количеству затрагиваемых ферментов) выражены на более коротких сроках введения пробиотиков. Последний факт является показателем развития адаптации слизистой оболочки кишечника к присутствию пробиотика.

Aim of the work is to evaluate the activity of intestinal digestive enzymes in rats after administration of probiotic bacteria *Lactobacillus fermentum Z* and *Enterococcus faecium L3*.

Materials and methods. Enzyme activities were determined in eight groups of rats where the bacteria *Lactobacillus fermentum Z* (gr. *L.f.1*, *L.f.2*) or milk (gr. *K1*, *K2*) were intragastrically administered for 3 and 7 days, or the bacteria *Enterococcus faecium L3* (gr. *E.f.1*, *E.f.2*) or milk (gr. *K3*, *K4*) – during 7 and 14 days.

Results. Three days after administration of the *L. fermentum Z* (gr. *L.f.1*) mass of mucosa was lower than in the control *K1* in the small intestine, and after 7 days it was higher than in the control *K2* in the small and large intestines. 14 days after administration of the *E. faecium L3* (gr. *E.f.2*) mass of mucosa was increased, compared to *K4*, in the small intestine and was decreased in the colon. In gr. *L.f.1* activities of glucoamylase (GA) and maltase (M) in the mucosa of the small intestine were decreased compared with *K1*. In chyme, activities of GA, M, and lactase (L) were increased in the small intestine, activity of alkaline phosphatase (ALP) was increased in all intestinal segments; activities of aminopeptidase M (AP) and glycy-L-leucine dipeptidase (GL) were decreased in the colon. In gr. *L.f.2* activities of M and ALP were increased,

compared to K2, in the small intestinal mucosa and of GL – in the chyme. In gr. *E.f.1* activities of M and ALP in mucosa were reduced of the small intestine, while activity of ALP was increased in the colon, compared to the K3. In chyme, activity of AP in the small and large intestines and activity of GL in the small intestine were increased, compared with K3. In gr. *E.f.2* activity of GL in mucosa was increased, compared with K4, in the small intestine while activities of ALP and GL in chyme were decreased in the small intestine and activity of ALP – in the large intestine.

Conclusion. Administration of probiotic bacteria *L. fermentum* Z and *E. faecium* L3 to the rats alters mucosal mass and activities of digestive enzymes in the intestine. The changes are specific for the given probiotic and mostly expressed (considering the number the enzymes involved) in a shorter period after administration of probiotics. The latter fact shows a development of adaptation of the intestinal mucosa to the presence of probiotic.

CANDIDA ALBICANS В МИКРОБОЦЕНОЗАХ ОРГАНИЗМА БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Гульнева М.Ю., Носков С.М., Малафеева Э.В.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

CANDIDA ALBICANS IN MICROBIOCENOS AT RHEUMATOID ARTHRITIS PATIENTS

Gulneva M.Yu., Noskov S.M., Malafeeva E.V.

Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russia

Цель – изучение колонизации *Candida albicans* толстого кишечника, слизистых оболочек верхних дыхательных и мочевыводящих путей у больных ревматоидным артритом.

Материалы и методы. Обследовано 140 пациента, из них 100 больных ревматоидным артритом (РА) и 40 – условно здоровых лиц группы сравнения. Диагноз РА устанавливали согласно критериям Американской ревматологической ассоциации (1987). В лечении пациентов использовали метотрексат, глюкокортикоиды, нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) в терапевтических дозах. У 30 больных РА в комплексном лечении применяли генно-инженерные биологические препараты (ГИБП: ингибитор ФНО- α инфликсимаб и блокатор рецепторов интерлейкина 6 – тоцилизумаб). Изучение *C. albicans* проводили микологическим методом с выделением чистой культуры грибов и их идентификацией.

Результаты. У больных РА открытые биотопы были колонизированы *C. albicans*. При этом грибы определяли в кишечнике у 25,7% больных, в моче – у 8,2% и на слизистых оболочках носа – у 8,6%. У лиц группы сравнения данные показатели были, соответственно, 10%, 12,5% и 5%. Количественные показатели колонизации грибами толстого кишечника достигали значений $Ig\ 4,00 \pm 2,00\ КОЕ/г$ (в контроле – $Ig\ 2,60 \pm 0,55\ КОЕ/г$). У больных РА, леченных с использованием ГИБП, на основании определения показателя частоты встречаемости грибов, установлено существенное повышение до 33% частоты встречаемости грибов на слизистых оболочках носа, в то время как у больных РА, леченных без применения ГИБП, частота встречаемости грибов составляла 9% ($p < 0,01$).

Заключение. У больных РА формируется дисбаланс микробиоты в различных экологических нишах, более существенный при использовании ГИБП, что может определять развитие коморбидных (лат. *co* - вместе + *morbus* - болезнь) оппортунистических кандидозов. Применение ГИБП повышает колонизацию слизистых оболочек носа *C. albicans*.

Purpose was to study of *Candida albicans* colonization of the colon, mucous membranes of the upper respiratory and urinary tract infections in patients with rheumatoid arthritis.

Materials and methods. 140 patients, including 100 patients with rheumatoid arthritis (RA) and 40 conditionally healthy individuals comparison group were examined. The RA was diagnosis according to the criteria of the American Rheumatism Association (1987). Methotrexate, corticosteroids, nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in therapeutic doses were used in the treatment of patients. Genetically engineered biological agents (GIBP: TNF- α inhibitor infliximab and interleukin 6 receptor blocker - tocilizumab) were used in complex treatment of 30 patients with RA. The study of *C. albicans* was performed with a mycological method of isolating pure cultures of fungi and their identification.

Results. RA patients open biotopes were colonized by *C. albicans*. The fungi were determined in the intestine of patients in 25.7% cases, in the urine – in 8.2%, on the mucous membranes of the nose – in 8.6%. Persons of group comparison had these indicators, respectively, 10%, 12.5% and 5%. Quantitative indicators of fungi colonization of the colon were $Ig\ 4,00 \pm 2,00\ CFU / g$ (in the control - $Ig\ 2,60 \pm 0,55\ CFU / g$). In RA patients, in which treatment GIBP used, based on a determination of frequency of occurrence indicator fungi found significant improvement to 33% frequency of occurrence of fungi on the nasal mucosa, whereas in RA patients treated without GIBP frequency of occurrence of fungi was 8.6% ($p < 0.01$).

Conclusion. RA patients formed imbalance microbiota in different ecological niches, more significant in using of GIBP that can determine the development of comorbid (lat. *co* - together + *morbus* - disease) opportunistic candidosis. Application of GIBP increases colonization of the nasal mucosa *C. albicans*.

ДЕФЕКТЫ ИММУНИТЕТА ПРИ СТАФИЛОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ КОЖИ У ДЕТЕЙ

Гурина О.П., Блинов А.Е., Варламова О.Н., Деметьева Е.А., Тимохина В.И.

Государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

DEFECTS OF IMMUNITY OF CHILDREN WITH STAPHYLODERMIA

Gurina O.P., Bliinov A.E., Varlamova O.N., Dementeva E.A., Timokhina V.I.

State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia

Возникновение и рецидивирование стафилококковой инфекции связано с дисфункцией иммунной системы, обусловленной как факторами патогенности стафилококка, так и индивидуальными особенностями организма.

Цель работы – исследование иммунного статуса при рецидивирующей стафилодермии у детей.

Материалы и методы. Обследовали 64 пациента в возрасте от 9 до 18 лет. Исследование иммунного статуса проводили с помощью иммунологических тестов I и II уровня, иммунофенотипирование лимфоцитов – проточной цитофлуориметрией (Epix MCL, Beckman Coulter). Статистическую обработку проводили параметрическими методами.

Результаты. У всех обследованных детей выявили дисбаланс в иммунной защите организма. Дисфункцию фагоцитов наблюдали в 100% случаев (поздно стартовые клетки, «ленивые» лейкоциты, незавершенный фагоцитоз). Дисиммуноглобулинемии различных типов отмечали в 62,5% случаев. Гипоиммуноглобулинемия А коррелировала с незавершенностью фагоцитоза ($r = -0,32$). Гипериммуноглобулинемия М обнаружили у 25% пациентов, у 12,5% – такая способность отсутствовала, что приводило к длительному течению каждого эпизода заболевания. Гипо- и гипериммуноглобулинемия G наблюдали в 20,8 и 16,7% случаев соответственно. Выявили прямую умеренную корреляционную связь между содержанием IgG и C_3 -компонентом комплемента ($r = 0,4$). Гиперкомplementемии C_3 установили у 18,2% больных, гипокомplementемии C_3 – у 27,3%. Низкий уровень C_3 сочетался с дефектом фагоцитоза ($r = -0,3$). Уровень C_2 -компонента системы комплемента у 40% детей был повышен, сопровождался высокой фагоцитарной активностью ($r = 0,72$) и низким фагоцитарным числом ($r = -0,5$ и $-0,9$). Активация системы комплемента по классическому пути на фоне адекватной продукции IgG обуславливают опсонизирующие возможности сыворотки крови пациента, эффективный фагоцитоз и выздоровление. В клеточном звене иммунитета отмечали Т-лимфоцитопению и В-лимфоцитоз более чем у половины обследованных лиц. Снижение уровня CD3+CD4+ клеток у 57% детей коррелировало с гипоиммуноглобулинемией. Наблюдали снижение иммунорегуляторного индекса в 43% случаев. В 27,3% случаев выявили снижение NK-лимфоцитов (CD3–CD(16+56)+). У 29,2% обследованных пациентов уровень циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови превышал нормальное значение и коррелировал с гиперкомplementемией C_3 ($r = 0,42$).

Заключение. Выявленные дефекты иммунного ответа способствуют возникновению и рецидивирующему течению стафилококковой инфекции кожи у детей. Данная группа пациентов нуждается в проведении индивидуальной иммунокоррекции.

The occurrence and recurrence of staphylococcal infection is associated with dysfunction of the immune system, due to the both factors of pathogenicity of *Staphylococcus* and individual characteristics of the organism.

Purpose - the study of immune status in children with recurrent staphylococcal infection.

Materials and methods. 64 patients aged 9 to 18 years were examined. Immune status was investigated using immunological tests I and II level, immunophenotyping of lymphocytes of flow cytometry (Epix MCL, Beckman Coulter). Statistical processing was performed using parametric methods.

Results. An imbalance in the immunity in all examined children was revealed. Dysfunction of phagocytes was observed in 100% of cases (late starting cells, lazy leukocytes, incomplete phagocytosis). Different types of disimmunoglobulinemia were noted in 62.5% of the cases. Hypoimmunoglobulinemia A correlated with the incomplete phagocytosis ($r = -0.32$). Hyperimmunoglobulinemia M was found in 25% of patients, 12.5% of this capacity was absent which has led to last for each episode of illness. Hypo- and hyperimmunoglobulinemia G were observed in 20.8 and 16.7% of cases, respectively. A moderate direct correlation between the content of IgG and C3 component of the complement ($r = 0.4$) was revealed. Hypercomplementemia C3 was established for 18.2% of patients, hypocomplementemia C3 for 27.3%. Low C3 level was associated with a defect in phagocytosis ($r = -0.3$). The level of C4 component of the complement system in 40% of the children was increased and was accompanied by a high phagocytic activity ($r = 0.72$) and low phagocytic number ($r = -0.5$ and -0.9). Activation of the complement system by the classical way contrast of the adequate production of IgG determines opsonizing possibilities of the patient's blood serum, efficient phagocytosis and recovery. T-lymphopenia and B-lymphocytosis in cellular immunity were noted more than half of the surveyed people. Decrease in the level of CD3+CD4+ cells in 57% of children was correlated with hypoimmunoglobulinemia. There was a decrease of immunoregulatory index in 43% of cases. A reduction in NK-lymphocytes (CD3-CD16+56+) was showed in 27.3% of cases. The level of circulating immune complexes in the blood serum exceeded the normal value and correlated with hypercomplementemia C3 ($r = 0.42$) was studied in 29.2% of patients.

Conclusion. Established defects in the immune response contribute to the onset and recurrent course of staphylococcal skin infections in children. This group of patients is in need of individual immunotherapy.

ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС У БОЛЬНЫХ ЗООАНТРОПОНОЗНОЙ ТРИХОФИТИЕЙ

Даниленко Р.У., Хисматуллина З.Р., Мухамедеева О.Р.

Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

CYTOKINE STATUS AT PATIENTS WITH ZOOANTHROPONOTIC TRICHOPHYTOSIS

Danilenko R.U., Hismatullina Z.R., Muhamadeeva O.R.

Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

Цель исследования – изучение цитокинового статуса у пациентов с различными клиническими вариантами зооантропонозной трихофитии.

Материалы и методы. Обследованы 40 детей с инфильтративной и нагноительной формами зооантропонозной трихофитии волосяной части головы в возрасте от 6 до 18 лет. При проведении иммунологического исследования использовали образцы венозной гепаринизированной крови и сывороток крови больных.

Содержание ряда цитокинов – фактора некроза опухоли- α (ФНО- α), интерлейкинов (ИЛ-1 β , ИЛ-4) и интерферона- γ (ИНФ- γ) выявляли с помощью иммуноферментных тест-систем для определения ФНО- α человека, набора реагентов ProCon IL-1 β и ProCon IL-4, набора реактивов «ИФА-IFN-гамма», предназначенных для количественного определения цитокинов в исследуемых образцах методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА).

Результаты. При исследовании цитокинового профиля у детей с трихофитией было установлено, что течению данного микоза сопутствуют изменения в цитокиновом статусе пациентов. До начала лечения у больных с инфильтративной и нагноительной трихофитией в сыворотке крови определяли достоверное повышение содержания цитокинов – ФНО- α , ИЛ-1 β и ИЛ4 и ИНФ- γ . В частности, кон-

центрации цитокинов ФНО- α и ИЛ-1 β и ИНФ- γ возрастали в 3-6 раз, а уровень ИЛ-4 увеличивался не более чем в два раза. Возрастание содержания указанных цитокинов в крови больных с трихофитией было значительно выражено при инфильтративной форме, а ИЛ-4 – при нагноительной форме микоза.

Заключение. У больных с инфильтративной формой трихофитии в сыворотке крови возрастает концентрация «острофазовых» провоспалительных цитокинов, обеспечивающих поддержку процессов формирования клеточно-опосредованного иммунитета, а у больных с нагноительной трихофитией возрастает содержание цитокинов, участвующих в контроле активности антителогенеза.

ЦИТОКИНЫ-РЕГУЛЯТОРЫ ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ГЕМОБЛАСТОЗАМИ, ОСЛОЖНЕННЫМИ ОРОФАРИНГЕАЛЬНЫМ КАНДИДОЗОМ

Данилова Е.Ю., Шабашова Н.В., Фролова Е.В., Учеваткина А.Е., Филиппова Л.В.

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

CYTOKINES REGULATORS OF INFLAMMATION IN PATIENTS WITH HEMOBLASTOSIS COMPLICATED WITH OROPHARYNGEAL CANDIDOSIS

Danilova E.Y., Shabashova N.V., Frolova E.V., Uchevatkina A.E., Filippova L.V.

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

Общезвестно, что больные гемобластозами имеют системные дефекты иммунной системы, обусловленные, по крайней мере, изначально нарушением пропорциональности функции костного мозга, а в дальнейшем – вынужденными лечебными мероприятиями. Эти факторы риска способствуют появлению осложнений, в том числе – проявлению патогенных свойств *Candida* spp. Однако нами показано, что такое осложнение, как орофарингеальный кандидоз (ОФК) развивается менее чем у 9,5% онкогематологических пациентов. Поэтому важно понимание особенностей локального иммунитета слизистой оболочки полости рта у данной категории больных, что может послужить выработке новых подходов к профилактике и лечению поверхностных грибковых осложнений у различных иммунокомпрометированных пациентов (ВИЧ-инфицированных, онкологических и у реципиентов трансплантатов).

Цель – исследовать уровни цитокинов в ротовой жидкости у больных гемобластозами.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужила ротовая жидкость (РЖ) 20 больных гемобластозами с осложнением в виде ОФК, 53 пациентов без осложнения и 16 здоровых людей с санированной ротовой полостью. В РЖ определяли уровни цитокинов: IFN γ , IL17, IL8, IL6, TNF α , G-CSF, MCP-1 и IL10, используя ИФА («Цитокин», «Вектор-Бест», Россия). Результаты обрабатывали с помощью программной системы STATISTICA for Windows (версия 6.0). Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0.05$.

Результаты. Наблюдали тенденцию к снижению уровней спонтанно синтезируемых IFN γ и IL10, вне зависимости от наличия или отсутствия ОФК у больных гемобластозами. Не обнаружили также существенного изменения уровней IL17, основного цитокина раннего инициативного воспаления, которое могло бы препятствовать инвазивному действию грибов на слизистую оболочку ротовой полости.

Установлено увеличение содержания IL6, IL8 и MCP-1 у больных гемобластозами по сравнению со здоровыми людьми. Оказалось, что концентрация MCP-1 в РЖ больных без осложнения, достоверно выше, чем у здоровых людей (177 ± 51 vs 44 ± 12 пг/мл, $p < 0.05$). Однако у больных с осложнением увеличение уровня MCP-1 было выражено слабее по сравнению с пациентами, у которых гемобластоз не сопровождался ОФК (123 ± 21 vs 177 ± 26 пг/мл, $p < 0.05$).

Заключение. По-видимому, усиление выработки цитокинов, активирующих нейтрофилы и другие клетки врожденного иммунитета, является показателем возрастания противомикробной защиты в условиях дефицита Т-зависимых механизмов, но при этом может быть причиной воспалительного повреждения слизистой оболочки, что, в свою очередь, способствует облегчению ее инвазии грибами. Со-

гласно полученным данным, необходимо изучение других факторов локального иммунитета, значимых для устойчивости к орофарингальному кандидозу.

СИСТЕМНАЯ ТЕРАПИЯ РАЗНОЦВЕТНОГО ЛИШАЯ «КАНДИТРАЛОМ»

Демьянова О. Б., Буравкова А. Г., Полуэктова Т. Е.

Воронежская государственная медицинская академия им. Н. Н. Бурденко, Воронеж, Россия

SYSTEMIC THERAPY OF THE PITYRIASIS VERSICOLOR WITH «CANDITRAL»

Demyanova O. B., Buravkova A. G., Poluectova T. E.

Voronezh State Medical Academy, Russia

Разноцветный (отрубевидный) лишай – микотическая инфекция, вызываемая условно-патогенными дрожжевыми грибами *Malassezia furfur*.

Цель исследования – оценить эффективность, безопасность и переносимость итраконазола в виде капсул «Кандитрал» в лечении пациентов, страдающих распространенными и часто рецидивирующими формами разноцветного лишая.

Материалы и методы. Под нашим наблюдением находились 23 пациента (15 женщин и 8 мужчин) с разноцветным лишаем в возрасте от 18 до 53 лет. Длительность заболевания – от 2 до 10 лет. Среди наблюдаемых пациентов 11 страдали сахарным диабетом 2 типа, 5 – хроническим бронхитом и 7 – вегето-сосудистой дистонией. Все пациенты в прошлом неоднократно получали наружную антимикотическую терапию.

Диагностику заболевания проводили на основании клинической картины, специальных дерматологических (йодная проба Бальзера) и лабораторных (микроскопия) методов исследования. Перед началом лечения и через 2 недели после его окончания исследовали общие анализы крови, мочи и биохимические показатели крови. Итраконазол в виде капсул «Кандитрал» назначали по 200 мг (2 капсулы) 1 раз в сутки после еды в течение 7-14 дней, в зависимости от активности патологического процесса.

Результаты. Клинико-лабораторное выздоровление после 7 дней лечения наступило у 18 человек. 5 больным потребовался 14-дневный курс лечения. Все пациенты отмечали хорошую переносимость препарата. У 7 из 23 больных были признаки себорейного дерматита, регрессировавшего после лечения итраконазолом. Отклонений в общих анализах крови, мочи и биохимических показателях, по сравнению с началом лечения, не наблюдали. Рецидив в сроки до 6 месяцев отмечали у 1 пациента, не соблюдавшего предписанный гигиенический режим.

Вывод. Итраконазол в виде капсул «Кандитрал» является эффективным и безопасным системным антимикотиком и может быть использован в лечении распространенных рецидивирующих форм разноцветного лишая.

Deprive multi-colored (otrubevidny) – the mikotichesky infection caused by opportunistic barmy mushrooms of *Malassezia furfur*.

Research objective – to estimate efficiency, safety and shipping of an itraconazol in the form of capsules of “Kanditral” in treatment of the patients suffering from widespread and often recidivous forms multi-colored depriving.

Materials and methods. Under our supervision there were 23 patients (15 women and 8 men) with the multi-colored is deprived aged from 18 till 53 years. Disease duration – from 2 to 10 years. Among observed patients 11 2 types, 5 – chronic bronchitis and 7 – vegeto-vascular dystonia had diabetes. All patients in the past repeatedly received external antimikotichesky therapy.

Diagnosis of a disease was carried out on the basis of a clinical picture, special dermatological (iodic test of Balzer) and laboratory (microscopy) methods of research. Before an initiation of treatment and in 2 weeks after its termination investigated the general blood tests, urine and biochemical indicators of blood. Itraconazol in the form of capsules of “Kanditral” appointed on 200 mg (2 capsules) of 1 times per day after food within 7-14 days, depending on activity of pathological process.

Results. Clinical and laboratory recovery after 7 days of treatment came at 18 people. 5 patients needed a 14-day course of treatment. All patients noted good shipping of a preparation. At 7 from 23bolnykh there were symptoms of the seboireyny dermatitis regressing after treatment itraconazoloy. Deviations in the general blood tests, urine and biochemical

indicators, in comparison with an initiation of treatment, didn't observe. Recurrence in terms up to 6 months was noted at 1 patient who wasn't observing the ordered hygienic mode.

Conclusion. Itrakonazol in the form of capsules of “Kanditral” is effective and safe system antimycotic and can be used in treatment of widespread recidivous forms multi-colored depriving.

ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ЭВОЛЮЦИЯ ПОПУЛЯЦИИ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА В ПРИРОДНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ СЕВЕРНОЙ ЕВРАЗИИ

Джигоев Ю.П.^{1,2}, Букин Ю.С.³, Киселев Д.О.¹, Парамонов А.И.², Козлова И.В.^{1,2}, Ткачев С.Е.⁴, Дорошенко Е.К.², Сунцова О.В.², Лисак О.В.², Ляпунов А.В.², Злобин В.И.¹, Ружек Д.^{5,6}

¹Иркутский государственный медицинский университет, Иркутск;

²Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН, Иркутск;

³Лимнологический институт СО РАН, Иркутск;

⁴Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск;

⁵Институт паразитологии биологического центра АН Республики Чехия;

⁶НИИ ветеринарии, Республика Чехия.

SPATIAL EVOLUTION OF THE ENCEPHALITIS VIRUS POPULATION IN NATURAL ECOSYSTEMS OF NORTHERN EURASIA

Dzhigoev Yu.P.^{1,2}, Bukin Yu.S.³, Kiselev D.O.¹, Paramonov A.I.², Kozlova I.V.^{1,2}, Tkachev S.E.⁴, Doroshchenko E.K.², Suntsova O.V.², Lisak O.V.², Lyapunov A.V.², Zlobin V.I.¹, Ruzhek D.^{5,6}

¹Irkutsk State Medical University, Irkutsk;

²Scientific Center of family health problems and human reproduction of SB RAS, Irkutsk;

³Limnologichesky Institute SB RAS, Irkutsk;

⁴Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk;

⁵Institut Parasitology Biological Center, Academy of Sciences of the Czech Republic;

⁶NIИ veterinary, Czech Republic

Цель – биоинформационное моделирование векторного распространения популяции вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) на территории Северной Евразии.

Материалы и методы. Было сформировано три популяционные группы: 1) 26 локальных и 11 региональных популяций по фрагменту гена E (длиной 993 н.о., 374 штамма); 2) 6 региональных популяций по геномам 56 штаммов. Межпопуляционное разнообразие определяли по значениям Fst-статистик [Hudson R., et. al., 1992]. Внутрипопуляционное разнообразие (ВПП) оценивали по средней доле мутационных замен в популяции. Эволюционные возраста популяции определяли с помощью пакета программ jModelTest 0.1 (MrBayes 3.2.1) [Posada D., 2008].

Результаты. В 26 локальных популяциях наименьшие значения Fst-статистик и наибольшие ВПП были показаны для популяции из Восточной Сибири (ВС) и Восточной Европы (ВЕ) (Литва, Эстония). В популяциях Центральной Европы (ЦЕ) и Дальнего Востока (ДВ, Россия) была обратная картина. По 11 региональным популяциям показатели Fst-статистик и ВПП были аналогичными. То же самое повторилось для 6 популяции по геномной выборке. Эволюционные возраста для 11 популяции соответствовали структуре распределения по значениям Fst-статистик и ВПП: для популяции из Западной и ВС, в среднем, определялся в 3051±587 лет, а для популяции из ДВ – 870±169 лет, Средней и ЦЕ – 256±56 лет. Для популяции из Восточной Азии (Китай, Япония, Ю. Корея) и ВЕ (Балтийский регион) были показаны возрастные критерии –2548±531 и 2932±580 лет, соответственно.

Заключение. Установили, что эволюционное распространение популяции ВКЭ шло из одного центра – Сибирского региона в двух направлениях – на Запад и на Восток Евразии. В Балтийском регионе и на северо-востоке Китая образовались вторичные центры распространения ВКЭ.

Исследования финансировались грантами: 1) Программа фундаментальных исследований Президиума РАН № 1 по стратегическим направлениям развития науки «Фундаментальные проблемы математического моделирования»; 2) Российского научного фонда (№ 14-15-00615) по эволюции штаммов европейского генотипа.

Purpose of the study is bioinformatics modeling of distribution vector of tick-borne encephalitis virus (TBEV) populations in Northern Eurasia.

Materials and methods. Three population groups were formed: 1) 26 local and 11 regional populations for E gene fragment (length 993

b.p., 374 strains); 2) 6 regional populations on the genomes of 56 strains. Interpopulation diversity was determined by the values of Fst-statistics [Hudson R., et al., 1992]. Intrapopulation diversity (IPD) was evaluated by the average share of mutational substitutions in the population. Evolutionary age of the population was determined using jModelTest0.1 package (MrBayes 3.2.1) [Posada D., 2008].

Results. From the 26 local populations of the lowest values of Fst-statistic and greatest IPD were shown for the population of Eastern Siberia and Eastern Europe (Lithuania, Estonia). For the populations of Central Europe and the Far East the opposite was true. In 11 regional population values of Fst-statistics and IPD were similar. The same thing happened to 6 genomic sample populations. Estimated evolutionary ages of 11 populations were consistent with the distribution of Fst-statistics and IPD values: for the population of the Western and Eastern Siberia, on the average, it was 3051 ± 587 years, for the population of the Far East 870 ± 169 years, Central and Middle Europe 256 ± 56 years. For the population of East Asia (China, Japan, South Korea) and Eastern Europe (Baltic region) were shown the ages of 2548 ± 531 and 2932 ± 580 years, respectively.

Conclusion. It was found that the distribution of the TBEV took its origin from one center - Siberian region and went in two directions - to the West and to the East of Eurasia. The Baltic region and the north-eastern China formed secondary centers of TBEV spread. The study was funded by grants from: 1) Basic Research Program of the Presidium of RAS number 1 on the strategic directions of science "Fundamental Problems of mathematical modeling"; 2) Russian Science Foundation (№ 14-15-00615) on the evolution of the European genotype strains.

НОВЫЕ ДАННЫЕ ОБ ЭТИОЛОГИИ РЕЦИДИВИРУЮЩЕГО ВУЛЬВОВАГИНАЛЬНОГО КАНДИДОЗА У ЖЕНЩИН В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

Долго-Сабурова Ю.В., Жорж О.Н., Выборнова И.В., Богомолова Т.С., Шурпицкая О.А.

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

NEW DATA ON THE ETIOLOGY OF RECURRENT VULVOVAGINAL CANDIDOSIS IN WOMEN IN SAINT-PETERSBURG

Dolgo-Saburova Yu.V., Zhorzh O.N., Vibornova I.V., Bogomolova T.S., Shurpitskaya O.A.

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

Выявление вида возбудителя рецидивирующего вульвовагинального кандидоза (РВБК) является важным этапом диагностики этого заболевания, поскольку от результатов исследования зависит выбор антимикотического препарата.

Цель исследования – провести сравнительный анализ этиологии рецидивирующего вульвовагинального кандидоза в различные периоды наблюдения.

Материалы и методы. С апреля 2014 г. по март 2015 г. обследовано 100 больных РВБК в возрасте от 17 до 56 лет (медиана – 27,6). Длительность заболевания составила 0,5-21 год (медиана – 4,8), частота рецидивов – 4-12 в течение года (медиана – 6,8). Группа контроля – 1285 больных РВБК в возрасте от 15 до 71 года (медиана – 29,3), обследованных с сентября 2003 г. по март 2014 г. Статистически значимых отличий по длительности и частоте рецидивов заболевания в группах не выявили. Диагноз кандидоза верифицировали на основании сочетания клинических и лабораторных признаков (выявление почкующихся дрожжевых клеток, псевдомицелия и/или мицелия при микроскопии вагинальных мазков, рост *Candida* spp. при посеве вагинального отделяемого). Определение чувствительности возбудителей к флуконазолу *in vitro* проводили диско-диффузионным методом согласно протоколу CLSI M44-A с применением модифицированного агара Мюллера-Хинтона. Использовали диски производства компании Becton Dickinson (США) и Oxoid (Великобритания), содержащие 25 мкг флуконазола. Учет результатов осуществляли с помощью прибора BIOMIC Vision (Giles Scientific, США). Также всем больным выполняли исследование pH влагалища и бактериологическое исследование влагалищных выделений.

Результаты и их обсуждение. У 97% больных основной группы

выделили *C. albicans* (vs. 88,6% больных группы контроля, $p < 0,05$), у 2% – *C. glabrata*, у 1% – *C. krusei*. В контрольной группе у 11,4% пациентов обнаружили грибы двенадцати видов, не относящихся к *C. albicans*: *C. glabrata* (3,7%), *C. krusei* (2,0%), *C. parapsilosis* (1,6%), *C. guilliermondii* (1,1%), *C. tropicalis* (0,9%), *C. dubliniensis* (1,0%), *C. kefyr* (0,7%). У 0,4% больных контрольной группы возбудителями РВБК были редкие виды – *C. lipolytica*, *C. norvegensis*, *C. rugosa*, *C. zeylanoides*, *C. famata*.

В основной группе возбудители оказались чувствительными к флуконазолу *in vitro* у 84% женщин, чувствительными дозозависимыми – у 5%, резистентными – у 11% (vs 93%, 3%, 4% в группе контроля соответственно). У 77% больных с РВБК, обусловленным штаммами *Candida* spp. со сниженной чувствительностью, отмечали признаки дисбиоза влагалища (повышение pH влагалища $> 6,5$, наличие «ключевых» клеток при микроскопии вагинальных мазков, полное отсутствие *Lactobacillus* spp. и массивный рост *Gardnerella vaginalis* при культуральном исследовании вагинального секрета). Можно предположить, что изменение pH вагинальной среды и состава вагинальной микрофлоры могло способствовать формированию устойчивости *Candida* spp. к флуконазолу.

Выводы. Основными возбудителями рецидивирующего вульвовагинального кандидоза в 2014-2015 гг. в Санкт-Петербурге были *C. albicans* (97%). За этот период частота выделения *Candida* spp. со сниженной чувствительностью к флуконазолу возросла более чем в два раза по сравнению с 2003-2014 гг. Целесообразен дальнейший мониторинг чувствительности возбудителей рецидивирующего вульвовагинального кандидоза к антимикотическим препаратам. Причины снижения чувствительности *Candida* spp. к флуконазолу *in vitro* у данной категории пациентов требуют дальнейшего изучения.

Definition of causative agent's type is important stage in diagnosis of recurrent vulvovaginal candidosis (RVVC). Results of the study influence on a choice of antifungal drugs.

Objective. To conduct a comparative analysis of RVVC etiology in different periods.

Materials and methods. From April 2014 to March 2015 were examined 100 patients with RVVC in age from 17 to 56 years (median - 27.6). The disease duration was 0.5 - 21 (median - 4.8), the recurrence rate - 12.4 during the year (median - 6.8). The control group - 1285 patients RVVC aged 15 to 71 years (median - 29.3), surveyed from September 2003 to March 2014. There are not statistically significant differences in duration and frequency of relapses between both groups. Diagnosis of RVVC was based on association of clinical symptoms and standard laboratorial tests (exposure of budding yeasts cells, mycelium/pseudomycelium by microscopy of vaginal smears, growth *Candida* spp. on Sabouraud dextrose agar). Isolates were identified by standard morphological and biochemical methods. In vitro susceptibilities to fluconazole of vaginal isolates were determined by disk-diffusion test according to the CLSI M44-A protocol. Used wheels manufactured by Becton Dickinson (USA) and Oxoid (UK) containing 25 mg of fluconazole. Records of the results was performed using the device BIOMIC Vision (Giles Scientific, USA).

Results and discussion. In 97% of patients of the main group were isolated *C. albicans* (vs. 88,6% of patients of the control group, $p < 0,05$), at 2% - *C. glabrata*, at 1% - *C. krusei*. In control group, 11,4% patients had twelve non-*C. albicans* species: *C. glabrata* - 3,7%, *C. krusei* - 2,0%, *C. parapsilosis* - 1,6%, *C. guilliermondii* - 1,1%, *C. tropicalis* - 0,9%, *C. dubliniensis* - 1,0%, *C. kefyr* - 0,7%, others agents (*C. lipolytica*, *C. norvegensis*, *C. rugosa*, *C. zeylanoides*, *C. famata*) - 0.4%.

In the main group, 84% of *Candida* spp. isolates were susceptible to fluconazole *in vitro*, dose-dependent fluconazole susceptibility was detected in 5% of *Candida* spp. isolates, and fluconazole-resistant *Candida* spp. were isolated in 11% (vs 93%, 3%, 4% in the control group, respectively). In 77% of RVVC cases due to *Candida* spp. with reduced susceptibility showed signs of vaginal dysbiosis (pH of vaginal fluid > 6.5 , clue cells on microscopy, absence of *Lactobacillus* spp., increased growth of anaerobic microorganisms). Probably, change of vaginal pH and failure of vaginal microbiota may contribute to emergence of resistant strains of *Candida* spp.

Conclusions. The main causative agents of recurrent vulvovaginal candidiasis in 2014-2015 in St. Petersburg were *Candida albicans* (97%). During this period, *Candida* spp. with reduced susceptibility to fluconazole has been isolated more than twice as likely compared to the 2003-2014's. In the future, it is necessary to monitor *in vitro* *Candida* spp. fluconazole susceptibility and study facilities for emergence of fluconazole-resistance *Candida* spp.

ПРОБЛЕМА ПОДГОТОВКИ ВРАЧЕЙ-МИКРОБИОЛОГОВ В РЕСПУБЛИКЕ КАЗАХСТАН

Дусмагамбетов М.У., Дусмагамбетова А.М.

Медицинский университет Астаны, Астана, Казахстан

THE PROBLEM OF A PREPARATION OF MEDICAL MICROBIOLOGISTS IN THE REPUBLIC KAZAKHSTAN

Dusmagambetov M.U., Dusmagambetova A.M.

Astana Medical University, Astana, Kazakhstan

По данным из научной литературы, рейтинг многопрофильных и специализированных клиник в США, Японии и в странах Европейского Сообщества зависит, прежде всего, от качества оказания диагностических услуг. По данным ВОЗ, удельный вес лабораторных исследований составляет 60-65% от общего количества диагностических услуг, и он возрастает каждые пять лет в два раза.

В Республике Казахстан (РК) осуществляют деятельность 2174 лаборатории в государственных и более 300 – в частных медицинских организациях, в том числе – 2063 клинико-диагностических, 142 бактериологических лабораторий.

В РК существует опыт подготовки врачей-микробиологов. С 1996 г. в Казахстане был внедрен Государственный общеобязательный стандарт образования по специальности 0408 – «Медико-биологическое дело». В соответствии с данным стандартом (ГОСО), медицинские вузы Республики выпускали врачей-микробиологов, врачей-биохимиков, врачей-кибернетиков и т.д. Значительное количество учебных часов в типовом учебном плане специальности «Медико-биологическое дело» выделяли на изучение не только технологии, методики проведения тех или иных клинических исследований, но и на анализ и интерпретацию полученных результатов. Однако с 2007 г. все медицинские вузы РК перешли на работу согласно ГОСО-2006 г., в которых не предусмотрено обучение специальностям лабораторного дела, подготовка врачей-микробиологов была прекращена. Так, последний выпуск специалистов «Медико-биологического дела» был произведен в 2010-2011 гг.

Укомплектованность штатов врачей-лаборантов составляет всего лишь 60%. В условиях дефицита врачей-микробиологов, на работу в лаборатории принимают специалистов с высшим *немедицинским* образованием, так называемые «биологи» лабораторий, функция которых, по существу, аналогична врачебной деятельности.

Дефицит врачей-микробиологов, замещение их «специалистами-биологами» привели к тому, что в настоящее время врачи-лаборанты выполняют, в основном, аналитическую работу, не проводя интерпретации полученных результатов.

Подготовка врачей-микробиологов и совершенствование лабораторной службы в РК позволит проводить масштабный мониторинг объективных показателей диагностики, лечения и профилактики, следить за динамикой микробиологических и других показателей здоровья населения, что важно для его оздоровления и прогнозирования эпидемиологической ситуации.

Таким образом, профессиональная подготовка и переподготовка кадров для лабораторной службы, в том числе – клинических микробиологов, является одной из самых актуальных проблем здравоохранения Республики Казахстан.

According to the data from scientific literature, the rating of multidisciplinary and specialized clinics in the USA, Japan and in the countries of the European Community depends, first of all, on quality of rendering diagnostic services. As reported by the WHO, laboratory researches make 60-65% of total diagnostic services and it increases twice each five years.

In the Republic of Kazakhstan (RK) there are 2174 laboratories in public and more than 300 in private medical organizations, including 2063 clinical-diagnostic, 142 bacteriological laboratories.

In RK there were hold many trainings for microbiologists. The state obligatory educational standard in the specialty 0408 – “Medico biological business” was introduced in Kazakhstan in 1996. According to this standard (GOSO), medical schools of the Republic trained microbiologists, biochemists, cyberneticists, etc. A significant amount of academic hours in the standard curriculum of the specialty “Medico biological Business” considered not only technologies, techniques of studying different clinical examinations, but also analysis and interpretation of the received results. However, since 2007 all medical schools of RK has come over to work according to GOSO-2006, in which training in laboratory business is not provided and training of microbiologists was stopped. So, the last class of

graduates of “Medico biological business” was in 2010-2011.

Staffing level of laboratory doctors makes only 60%. Experts with a higher nonmedical degree, so-called “biologists” of laboratories, whose function, in essence, is similar to physician’s function, are employed in laboratories for reasons of shortage of microbiologists.

Shortage of microbiologists, their replacement with “specialists-biologists” led to a situation when laboratory doctors generally provide analytical work without performing interpretation of the received results.

Training of microbiologists and improvement of laboratory service in RK will allow carrying out large-scale monitoring of objective indicators of diagnostics, treatment and prevention, to watch dynamics of microbiological and other indicators of public health that is important for its improvement and forecasting of an epidemiological situation.

Thus, vocational training and retraining of personnel for laboratory service, including clinical microbiologists, is one of the most crucial problems of health care of the Republic of Kazakhstan.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕКАРСТВЕННО УСТОЙЧИВЫХ ИЗОЛЯТОВ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ СИБИРИ

Дымова М.А.^{1,2}, Альховик О.И.³, Чередниченко А.Г.³, Храпов Е.А.¹, Петренко Т.И.³, Филипенко М.Л.^{1,2}

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН; ² Новосибирский Государственный Университет; ³ Новосибирский НИИ туберкулеза МЗ РФ, Новосибирск, Россия

MOLECULAR-GENETIC CHARACTERIZATION OF EXTENSIVELY DRUG-RESISTANT *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* ISOLATES CIRCULATING IN SIBERIA

Dymova M.A.^{1,2}, Alkhovik O.I.³, Cherednichenko A.G.³, Khrapov E.A.¹, Petrenko T.I.³, Filipenko M.L.^{1,2}

¹ Institute of chemical biology and fundamental medicine, Siberian branch of RAS; ² Novosibirsk State University, Novosibirsk; ³ Novosibirsk Research Institute of Tuberculosis; Russia

Цель – быстрая молекулярно-генетическая идентификация и характеристика лекарственно-устойчивых клинических изолятов, в частности, определение их генотипа и мутаций, ассоциированных с лекарственной устойчивостью.

Материалы и методы. 30 клинических изолятов, характеризующихся множественной и широкой лекарственной устойчивостью, были выделены от пациентов, проживающих на территории Сибири. Лекарственную устойчивость определяли с использованием системы Bactec MGIT 960. Молекулярно-генетическую характеристику изолятов проводили с помощью VNTR (Variable Number of Tandem Repeats)-типирования по 15 локусам, делиготипирования по 10 локусам, секвенирования, ПЦР – ПДРФ (полиморфизм длины рестрикционных фрагментов) – анализа и ПЦР в режиме «реального времени» с HRM (High Resolution Melting)-анализом кривых плавления продуктов амплификации.

Результаты. 29 изолятов характеризовались широкой лекарственной устойчивостью, из них 28 изолятов принадлежали семейству Beijing: 11 изолятов – к M11 типу (39%), 2 – к M2 типу (7%), 1 – к M33 типу, и 17 изолятов семейства Beijing имели уникальный профиль. К семейству LAM принадлежали 2 из 30 изолятов. Для каждого изолята установили нуклеотидные последовательности генов (*proB*, *katG*, *rrs*, *rpsL*, *tyaA*, *gidB*, *gyrA*, *gyrB*), ассоциированных с формированием устойчивости к рифампицину, изониазиду, амикацину, канамицину, капреомицину и офлоксацину соответственно. Выявили большую совпадемость (конгруэнтность) между VNTR-типированием и делиготипированием.

Выводы. Делиготипирование может быть использовано в качестве скрининга, VNTR-типирование – для последующей характеристики изолятов *M. tuberculosis*. Быстрое определение лекарственной устойчивости клинических изолятов *M. tuberculosis* обуславливает более эффективное лечение туберкулеза.

The aim of this study was a fast molecular genetic identification and characterization of drug-resistant clinical isolates, in particular, the determination of their genotype and mutations associated with drug resistance.

Materials and methods. 30 clinical extensively drug-resistant

isolates were isolated from patients who live in Siberia. Drug resistance was determined using the BD BACTEC™ MGIT™ 960 System. Molecular genetic characterization of isolates was performed by means of VNTR-typing (Variable Number of Tandem Repeats) using 15 loci, as well as deligotyping using 10 loci, the DNA sequencing, PCR – RFLP, and real-time PCR with HRM.

Results. 29 isolates were characterized as extensively drug-resistant, 28 isolates belonged to Beijing family *M. tuberculosis*, in particular, 11 isolates belonged to M11 type (39%), 2 isolates - to the M2 type (7%), 1 - to the M33 type, and 17 isolates of Beijing family had a unique profile. 2 from 30 isolates belonged to LAM family *M. tuberculosis*. It was analyzed the nucleotide sequences of the genes (*rpoB*, *katG*, *rrs*, *rpsL*, *tlyA*, *gidB*, *gyrA*, *gyrB*), associated with the formation of resistance to rifampicin, isoniazid, amikacin, kanamycin, capreomycin and fluoroquinolone, respectively. It was shown the greater congruence between the VNTR-typing and the deligotyping.

Conclusions. Deligotyping can be used as a screening test, and VNTR-typing – as the methods for more detailed subsequent characteristics of *M. tuberculosis*. The rapid determination of drug resistance of clinical isolates of *M. tuberculosis* leads to more effective treatment of tuberculosis.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ, СЕРОТИПОВОЙ ПЕЙЗАЖ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ДЕТЕЙ-БАКТЕРИОНОСИТЕЛЕЙ

Елистратова Т.А.¹, Протасова И.Н.^{1,3}, Перьянова О.В.^{1,3}, Бахарева Н.В.²

¹Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого; ²Министерство здравоохранения Красноярского края; ³Российско-Японский центр микробиологии, метагеномики и инфекционных заболеваний, Красноярск, Россия

STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE PREVALENCE, SEROTYPE DISTRIBUTION AND SUSCEPTIBILITY TO ANTIMICROBIALS AMONG CHILDREN-BACTERIOCARRIERS

Elistratova T.A.¹, Protasova I.N.^{1,3}, Peryanova O.V.^{1,3}, Bakhareva N.V.²

¹Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky; ²The Ministry of Healthcare of Krasnoyarsk Region; ³Russian-Japan Center of Microbiology, Metagenomics and Infectious Diseases, Krasnoyarsk, Russia

Цель исследования – изучение распространенности серотиповой принадлежности и чувствительности к антибактериальным препаратам *Streptococcus pneumoniae*, выделенных от детей-бактерионосителей.

Материалы и методы. Обследовано 250 детей в возрасте до 5 лет и 215 детей школьного возраста из городов и районов Красноярского края. Идентификацию *S. pneumoniae* проводили на основе морфотинкториальных, культуральных свойств, чувствительности к желчи и оптохину, а также с помощью ПЦР (выявление фрагмента гена *cpsA*). ПЦР-серотипирование осуществляли с 40 парами праймеров, сгруппированных в 10 мультиплексных реакций. Чувствительность к 15 антимикробным препаратам определяли методом серийных разведений в агаре согласно рекомендациям CLSI.

Результаты. Уровень носительства пневмококка среди детей до 5 лет составил 51,6%, среди детей школьного возраста – 12,1%.

Распределение серотипов/серогрупп *S. pneumoniae* у детей до 5 лет было представлено следующим образом: преобладали 23F (30%) и 19F (20%); серотипы 1 и 6B выявляли в 10% случаев, серотипы 3, 14 – в 7%; 15AF, 18C, 35AC/42, 23A – в 4% каждый. Среди детей школьного возраста преобладали серотипы 6B и 9VA (29%), 23A (14%); типы 15AF, 15BC, 10A, 21 составили 7% каждый.

Среди изученных штаммов отмечали высокую чувствительность к пенициллину (93,3%), доля умеренно резистентных составила лишь 6,7%. 20% изолятов были нечувствительны к цефалору, 10% – к цефалоспорином III поколения цефдиторену и цефтриаксону. Устойчивость к эритромицину и тетрациклам отмечали у 13,3% штаммов. У подавляющего большинства штаммов обнаружили чувствительность к карбапенемам.

16,7% изолятов были полирезистентными и относились к сероти-

пу 19F и 6 серогруппе.

Выводы. Среди детей Красноярского края в возрасте до 5 лет установили высокий уровень носительства *S. pneumoniae*, однако имела место тенденция к снижению колонизации верхних дыхательных путей пневмококком по мере взросления. Так, у детей школьного возраста (средний возраст – 11 лет) процент носительства равен 12,1. При этом в обеих группах детей доминировали серотипы *S. pneumoniae*, относящиеся к «инвазивным», следовательно, существует опасность развития инвазивных форм пневмококковых заболеваний у носителей и лиц из групп риска. Обращает на себя внимание факт выявления у носителей полирезистентных штаммов *S. pneumoniae*, что может привести к трудностям в процессе антибактериальной терапии.

90% из общего числа выделенных штаммов можно отнести к вакцино-предотвратимым, что служит основой целесообразности вакцинации детей в возрасте до 5 лет и лиц, обладающих повышенной восприимчивостью к пневмококковой инфекции.

The purpose of the research – to study the prevalence, serotype distribution and susceptibility to antimicrobials of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from children-bacteriocarriers.

Materials and methods. A total of 250 children of the age of 5 years and 215 school children from the cities and districts of the Krasnoyarsk Territory were examined. Identification of *S. pneumoniae* was carried out based on Gram staining, colony morphology, susceptibility to optochin, bile solubility, and conventional PCR (detection of *cpsA* gene). PCR-deduction of *S. pneumoniae* serotype was performed with 40 primer pairs, grouped in 10 multiplex reactions. Susceptibility to 15 antimicrobials was determined by agar dilution method as recommended by CLSI.

Results. The level of the pneumococcal carriage among children under 5 years was 51.6%; that among children of school age was 12.1%.

The distribution of *S. pneumoniae* serotypes/serogroups among children under 5 years was as follows: predominated types were 23F (30%) and 19F (20%); serotypes 1 and 6B were detected in 10% cases; serotypes 3, 14 – 7%; types 15AF, 18C, 35AC/42, 23A – 4% each. Among school-age children the serotypes 6B and 9VA (29%), 23A (14%) were predominant; types 15AF, 15VS, 10A, 21 were revealed in 7% each.

Among examined strains high susceptibility to penicillin (93.3%) was observed; 6.7% of strains were intermediate. 20% of the isolates were cefaclor-resistant, 10% – ceftidoren and ceftriaxone-resistant. Resistance to erythromycin and tetracycline was observed in 13.3% of strains. The vast majority of strains showed sensitivity to carbapenems.

16.7% of isolates were multidrug-resistant and related to serotype 19F and serogroup 6.

Conclusion. Among children of the Krasnoyarsk Territory under the age of 5 years, a high level of carriage of *S. pneumoniae* was revealed, but there was a reducing trend in the upper respiratory tract colonization by pneumococcus as they grow older. For example, among school-age children (the average age – 11), 12.1% carriers were detected. Thereby in both groups of children *S. pneumoniae* serotypes related to “invasive” were dominated, hence there is a risk of invasive forms of pneumococcal disease in carriers and persons of a high-risk group. Attention is drawn to the fact of identifying carriers of *S. pneumoniae* multidrug-resistant strains which can cause difficulties in antimicrobial therapy.

90% of isolated strains are vaccine-preventable, that is the basis of the feasibility of vaccination of children under 5 years of age and persons with increased susceptibility to pneumococcal infection.

ВЛИЯНИЕ АНТИСЕПТИКОВ НА БИОПЛЕНКУ, СФОРМИРОВАННУЮ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Еньчева Ю.А.¹, Кузнецова М.В.^{2,3}, Рубцова Е.А.³,
Афанасьевская Е.В.², Самарцев В.А.²

¹Городская клиническая больница №21, ²Пермский государственный медицинский университет им. ак. Е.А. Вагнера МЗ РФ, ³Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

THE INFLUENCE OF ANTISEPTIC AGENTS ON THE BIOFILM FORMED BY *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Encheva Y.A.¹, Kuznetsova M.V.^{2,3}, Rubtsova Y.V.³, Afanasyevskaya E.V.², Samarcev V.A.²

¹City Clinical Hospital N21, ²E.A. Vagner Perm State Medical University, ³Institute of ecology and genetics of microorganisms UB RAS, Perm, Russia

Стафилококки признают наиболее значимыми микроорганизмами, вызывающими у человека заболевания, ассоциированные с биопленками (Otto M., 2008). *Staphylococcus aureus* часто обнаруживают на катетерах и других внедренных в организм медицинских устройствах, а также при раневой, в том числе – ожоговой инфекции.

Цель работы – изучить морфометрические показатели моновицевой биопленки, образованной *S. aureus*, после воздействия хлоргексидина и «Пронтосана».

Материалы и методы. Объектами изучения служили референтный штамм *S. aureus* ATCC®29213 и клинические изоляты *S. aureus* (n=39). Биопленки формировали в течение суток в плоскодонных 96-ти луночных планшетах либо на покровных стеклах. Влияние на биопленку 0,5% раствора хлоргексидина биглюконата и «Пронтосана» оценивали после часовой экспозиции. Изучение биопленок проводили согласно O'Toole G.F. и Kolter R. (1998) и с помощью комбинированной системы, состоящей из атомно-силового Asylum MFP-3D (США) и конфокального лазерного сканирующего Olympus FV1000 (Япония) микроскопов.

Результаты. Антисептики хлоргексидин и «Пронтосан» вызвали изменение структуры стафилококковой биопленки, что характеризовалось появлением участков разрыхления и увеличением показателя шероховатости поверхности, а также повреждению клеток, которые проявлялись в уменьшении их диаметра и снижении количества жизнеспособных бактерий. Экспозиция с антисептиками сопровождалась снижением величины/массивности биопленки, образованной как на гидрофильной, так и на гидрофобной поверхностях. Показатель [Me (Q1-Q3)], характеризующий величину биопленки на гидрофобной поверхности, после воздействия «Пронтосана» составил 0,154 (0,095-0,287), а хлоргексидина – 0,165 (0,118-0,268) ед. ОП₅₈₀. Достоверность отличий в группах показана только для пары контроль/«Пронтосан» (p=0,000128). Проведенное исследование создало возможность получить информацию о влиянии на «зрелые» биопленки, сформированные штаммами *S. aureus*, двух наиболее часто применяемых в хирургической практике антисептиков.

Вывод. Оба препарата высоко активны в отношении стафилококковых биопленок с небольшим преимуществом «Пронтосана», который постепенно вытесняет хлоргексидин при обработке ран, что характеризует текущие тенденции в хирургической практике.

Staphylococci are considered as most prominent microorganisms provoking biofilm-associated diseases in human (Otto M., 2008). *Staphylococcus aureus* is frequently detected on catheters and other embedded medical devices, as well as in wound and particularly burn infections.

The aim was to analyze morphometric parameters of *S. aureus* monospecies biofilm following the action of chlorhexidine and «Prontosan».

Materials and Methods. The objects of the assay were the reference strain *S. aureus* ATCC®29213 and clinical isolates *S. aureus* (n=39). Biofilms were formed for 3 days in flat-bottomed 96-well plates or on cover glasses. Effect of 0,5% solution of chlorhexidine digluconate and «Prontosan» on biofilms was assessed after 1-h exposure. Biofilm examination was implemented according to O'Toole G.F. and Kolter R. (1998) and using combined system comprising atomic-force microscope Asylum MFP-3D (USA) and confocal laser scanning microscope Olympus FV1000 (Japan).

Results. Antiseptics chlorhexidine and «Prontosan» evoked the

structure alteration of staphylococcal biofilm that was characterized by the appearing of discharge areas and increasing of index of surface roughness, as well as cell disturbance that was manifested in their diameter reducing and lowering in the amount of viable bacteria. Antiseptic exposure was accompanied by the decrease in amount/solidness of biofilm formed both on hydrophilic and on hydrophobic surfaces. The parameter [Me (Q1-Q3)] that characterizes the biofilm mass on the hydrophobic surface after the «Prontosan» effect comprised 0,154 (0,095-0,287), and chlorhexidine – 0,165 (0,118-0,268) U OD₅₈₀. The reliability of differences between the groups was demonstrated only for control/«Prontosan» (p=0,000128). Conducted analysis favored getting the information on two most frequently used surgical antiseptics affecting «mature» biofilms formed by *S. aureus*.

Conclusion. Both antiseptics are highly active against staphylococcal biofilms with small prevalence of «Prontosan» that gradually replaces chlorhexidine in wound treating that characterizes current tendencies in surgical practice.

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОТЫ ВЛАГАЛИЩА У БОЛЬНЫХ С ТОРПИДНЫМ ТЕЧЕНИЕМ ХРОНИЧЕСКОГО ТРИХОМОНОЗА

Ермоленко Д.К.¹, Краева Л.А.¹, Иьги А.А.², Сварваль А.В.¹,
Ермоленко Е.И.²

¹НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера; ²СПб Государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

FEATURES OF THE VAGINAL MICROBIOTA IN PATIENTS WITH TORPID COURSE OF CHRONIC TRICHOMONOSIS

Yermolenko D.K.¹, Kraeva L.A.¹, Iygi A.A.², Svarval A.V.¹,
Ermolenko E.I.²

¹Pasteur Institute of Epidemiology and Microbiology; ²Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

Цель – изучение особенностей биоценоза влагалища при торпидном течении хронического трихомоноза.

Материалы и методы. Методом случайной выборки отобрано 83 женщины в возрасте от 21 года до 37 лет, без нарушений менструального цикла и каких-либо жалоб. За предшествующие 2-4 года 59 (71,1%) из них прошли курс лечения по поводу острого трихомоноза. Наличие этого заболевания в анамнезе категорически отрицали 24 (28,9%) пациенток. Диагностика протозойной инфекции заключалась в культуральном исследовании отделяемого из цервикального канала, влагалища и уретры, в сомнительных случаях – подтверждали методом ПЦР. Оценку видового состава микробиоты осуществляли бактериологическим исследованием отделяемого из заднее-боковых сводов влагалища.

Результаты. Помимо трихомонад, у пациенток чаще всего выявляли следующие условно-патогенные микроорганизмы: *Candida* spp. (66 проб, 79,5%), *Gardnerella vaginalis* (52 пробы, 62,7%), *Streptococcus* spp. (45 проб, 54,2%), *Enterococcus* spp., (38 проб, 45,8%), *Atopobium vaginae* (26 проб, 31,1%), *Mobiluncus* spp. (20 проб, 24,1%). Обязательных представителей микробиоты влагалища *Lactobacillus* spp. наблюдали во всех пробах. Однако их содержание было низким. *Bifidobacterium* spp. обнаружили в 6 пробах (7,2%). Частично компенсировали недостаточное количество полезных бактерий *Corynebacterium* spp. (57, 68,7%), однако и их количество было близким к нижней границе физиологической нормы.

Заключение. Даже при торпидном течении хронического трихомоноза, создаются условия для возникновения дисбиотических состояний, на фоне которых возможно развитие: вульвовагинального кандидоза, неспецифических кольпитов и анаэробного вагиноза. В связи с рецидивирующим течением этих нозологических форм необходима углубленная диагностика трихомоноза.

The goal - to study the features of vaginal biocenosis with torpid course of chronic trichomoniasis.

Material and methods. 83 women (aged 21 to 37 years) with no menstrual irregularities and any complaints were randomly selected. 59 (71.1%) of them were treated for acute trichomoniasis during the previous 2-4 years. 24 (28.9%) patients categorically denied the presence of this disease in the anamnesis. Protozoal infection diagnosis was confirmed by the study of discharge from the cervix, vagina and urethra by cultural method and in case of doubt was confirmed by PCR. Determination of

the microbiota species composition was performed by bacteriological study of vaginal discharge.

Results. The following opportunistic pathogens: *Candida* spp. (66 samples, 79,5%), *Gardnerella vaginalis* (52 samples, 62,7%), *Streptococcus* spp. (45 samples, 54,2%), *Enterococcus* spp., (38 samples, 45,8%), *Atopobium vaginae* (26 samples, 31,1%), *Mobiluncus* spp. (20 samples, 24,1%) were revived in addition to *Trichomonas vaginalis*. *Lactobacillus* spp., obligate representatives of the vaginal microbiota, was observed in all samples. However, their content was low. *Bifidobacterium* spp. was found in 6 samples (7,2%). *Corynebacterium* spp. (57, 68,7%) partially compensate of the insufficient number of beneficial bacteria, but their quantitative content was close to the lower boundary of the physiological level.

Conclusion. Conditions for the emergence of dysbiosis emerge even in the case of torpid course of chronic trichomoniasis. It promotes the development of: vulvovaginal candidosis, nonspecific colpitis and anaerobic vaginosis. Because of recurrent course of these nosological forms it is necessary to use careful diagnostic of trichomoniasis.

ВЫДЕЛЕНИЕ ЛЕГИОНЕЛЛ ИЗ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Жданович Е. А., Федорович Е.В., Красько А.Г.

Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья; Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Беларусь

THE LEGIONELLA SPP. ISOLATION FROM ENVIRONMENT IN REPUBLIC OF BELARUS

Zhdanovich E. A., Fedorovich E.V., Krasko A.G.

Republican Centre for Hygiene, Epidemiology and Public Health; Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology; Minsk, Belarus

Легионеллез – сапронозная инфекция, вызывающая поражение органов дыхания, часто – в форме тяжелых пневмоний. Известно более 50 видов легионелл, 22 вида патогенны для человека, более 80% всех случаев связано с *Legionella pneumophila* серотипа 1, летальность – 5-20%. Легионеллы размножаются в теплой воде в диапазоне температур 20-45 °С, особенно – в благоприятных условиях систем горячего и холодного водоснабжения, кондиционирования, водных сооружений и пр., где они накапливаются в значительных концентрациях (до 10⁷ КОЕ/л) с образованием биопленок.

В Республике Беларусь легионеллез ранее не выявляли, данные о распространенности и эпидемиологии возбудителей легионеллезной инфекции на территории страны отсутствуют.

Цель исследования – выделение и идентификация патогенных легионелл из объектов внешней среды: проб воды из систем водоснабжения гостиниц, бассейнов и пр., смывов с объектов внешней среды (водопроводная арматура, кондиционеры, установки подогрева-охлаждения воды, медицинское оборудование ЛПО) в Минске, Бресте, Гомеле и других городах Минской, Брестской, Витебской и Гомельской областей.

Материалы и методы. Бактериологическим методом исследовали 342 смыва с поверхностей технологического оборудования систем водопотребления и медицинских приборов, 122 пробы воды из гостиничных комплексов, предприятий и организаций здравоохранения. Подозрительные колонии имели гранулярную или блестящую поверхность, выросший центр, серовато-голубоватую, иногда – зеленоватую окраску. На 3-5 сутки колонии легионелл небольшие, диаметром 1-2 мм, плоско-выпуклые, гладкие с острым краем. Дальнейшую идентификацию проводили методами латекс-агглютинации и ПЦР в режиме реального времени.

Результаты. При исследовании выделили и идентифицировали 28 изолятов микроорганизмов, относящихся к семейству *Legionella* spp. Один изолят отнесли к роду *L. pneumophila*, серогруппы 1 (г. Минск, гостиничный комплекс); 25 изолятов – *L. pneumophila*, серогруппы 2-14; один изолят – *L. pneumophila* неустановленной серогруппы и один изолят – *Legionella* spp.

Заключение. Доказано присутствие в системах водопотребления гостиничных комплексов, объектов здравоохранения и предприятий патогенных легионелл, в том числе – наиболее патогенного вида *L. pneumophila*, серогруппы 1. Необходима организация постоянного системного мониторинга за распространением возбудителей легионеллеза и выявления пациентов с патологией органов дыха-

ния, вызванных легионеллами.

Legionellosis – the sapronotic infection causing respiratory failure in form of severe pneumonia. There are more than 50 species of *Legionella*, 22 species are pathogenic for humans. More than 80% of all cases are associated with *Legionella pneumophila* serotype 1, mortality – 5-20%. *Legionella* multiply in warm water in a temperature range of +20 - +45 °С, especially in favorable conditions of hot and cold water installation, air conditioning, water facilities and etc., where they accumulate in high concentrations (up to 10⁷ CFU/L) and form biofilms.

In Belarus legionellosis was not previously identified, information about the prevalence and epidemiology of *Legionella* infection pathogens are not present.

The aim of the study is the isolation and identification of pathogenic *Legionella* from objects in the environment: samples of water from the water supply of hotels, swimming pools and etc., swabs from environmental objects, plumbing fittings, air conditioning systems, installations of heating-cooling water, medical equipment in Minsk, Brest, Gomel and other cities of Minsk, Brest, Vitebsk and Gomel regions of Belarus.

Materials and methods. 342 samples of swabs from the surfaces of the water consumption systems, process equipment systems and medical devices, 122 water samples from hotels, businesses and health care organizations were investigated by bacteriological method. Suspicious colonies had granular or glossy surface, ingrown center, grayish-bluish, sometimes – greenish color. After 3-5 days of growing, the *Legionella* colonies were small, 1-2 mm in diameter, plano-convex, smooth with a sharp edge. Further identification was performed by latex-agglutination tests, and real time PCR analysis.

Results. 28 isolates of microorganisms belonging to the family of *Legionella* spp. were isolated and identified in this study. One isolate belongs to the genus of *L. pneumophila* serogroup 1 (Minsk, hotel); 25 isolates were *L. pneumophila* serogroup 2-14; one isolate – *L. pneumophila* unspecified serogroup and one isolate – *Legionella* spp.

Conclusion. We proved the presence in water systems of hotels, health care and businesses organizations of *Legionella* pathogens, including the most pathogenic species *L. pneumophila* serogroup 1. It is necessary to organize a permanent system of monitoring of the spread of *Legionella* pathogens and identification of patients with legionellosis.

НОСИТЕЛЬСТВО РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСОВ У ВОЕННОСЛУЖАЩИХ

Жоголев С.Д., Жоголев К.Д., Журкин М.А., Огарков П.И., Харитонов М.А., Иванов В.В., Удалцов О.Е., Сбойчаков В.Б., Иванников Ю.Г.

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

CARRIAGE OF RESPIRATORY VIRUSES IN MILITARYMEN

Zhogolev S.D., Zhogolev K.D., Zhurkin M.A., Ogarkov P.I., Kharitonov M.A., Ivanov V.V., Udaltsov O.E., Sboychakov V.B., Ivannikov Yu.G.

Military Medical Academy, St.Petersburg, Russia

Цель работы – обследование на вирусоносительство военнослужащих по призыву в одном из военных учебных центров в северо-западном регионе.

Материалы и методы. Исследовали клетки браш-биопсии слизистой оболочки носа у 317 здоровых лиц в возрасте 18-22 лет. Антигены ведущих респираторных вирусов, а также антигены *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydia pneumoniae* выявляли методом иммунофлюоресценции.

Результаты. При обследовании брашей из носа, полученных у новобранцев ноябрьского призыва на 2-12 день после прибытия в коллектив, антигены *M. pneumoniae* обнаружили у 6,3%, а *S. pneumoniae* – у 0,9% лиц. Вирусоносительство выявили у 13,9% новобранцев. В этиологическом спектре вирусоносительства преобладали аденовирусы – 50,0%. Доля антигенов вирусов парагриппа I и III типов составила 20,5%, РС- и коронавируса – по 9,1%, вирусов гриппа В – 6,8%, а вируса герпеса – 4,5%. Носительства вируса гриппа А среди обследованных не наблюдали.

Смешанное носительство вирусов отмечали в 4 случаях (1,3% от числа обследованных и 10% от числа вирусоносителей). В 3-х случаях установили совместное носительство РС-вирусов с аденовирусами, вирусами парагриппа III и гриппа В. У одного человека выяви-

ли одновременное носительство вирусов парагриппа III и гриппа В. У 4-х человек, совместно с вирусами, наблюдали носительство микоплазм: в 3-х случаях – микст-носительство *M. pneumoniae* и аденовирусов и в одном – *M. pneumoniae* и парагриппа I.

В первую неделю после прибытия в коллектив, чем больше дней прошло после прибытия, тем большую долю вирусоносителей обнаруживали. Если среди обследованных на 1-2 день после прибытия было выявлено только 1,3% вирусоносителей, то на 3-5 день их доля составила 7,9%, на 6 день – 13,6%, на 7-8 день – 16,7% от числа прибывших в соответствующие сроки.

Заключение. Носительство респираторных вирусов среди новобранцев широко распространено. Наиболее активно циркулируют аденовирусы.

ЭКОЛОГИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Жоголев С.Д., Жоголев К.Д., Журкин М.А., Огарков П.И., Харитонов М.А., Иванов В.В., Удальцов О.Е., Сбойчаков В.Б., Иваницков Ю.Г.

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

ECOLOGY OF RESPIRATORY DISEASES AGENTS

Zhogolev S.D., Zhogolev K.D., Zhurkin M.A., Ogarkov P.I., Kharitonov M.A., Ivanov V.V., Udalt'sov O.E., Sboychakov V.B., Ivannikov Yu.G.

Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia

Цель работы – определение частоты моно- и сочетанного носительства различных возбудителей болезней респираторного тракта в организованном коллективе в периоды его формирования и последующего существования, выявление роли этих агентов и их ассоциаций в возникновении ОРЗ, острых бронхитов и пневмоний.

Материалы и методы. В организованном коллективе лиц молодого возраста (18-22 года) провели комплексное динамическое бактериологическое, вирусологическое, серологическое, молекулярно-генетическое и иммунологическое исследование мокроты, мазков из зева, слюны, брашей из носа и сывороток крови 318 здоровых лиц, а также 150 больных пневмонией, острыми бронхитами и ОРЗ.

Результаты. Как у здоровых лиц, так и у больных пневмониями и острыми бронхитами наиболее распространенными возбудителями были пневмококки. Уровень носительства *Streptococcus pneumoniae* в первые 2 недели пребывания в коллективе возрос в 2,5 раза (с 18% до 45%). На втором месте по частоте выделения была гемофильная палочка. Нередко определяли вирусы гриппа, парагриппа, РС- и аденовирусы, а также *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydia pneumoniae*. Примерно в 1/3 случаев как носительства, так и острых заболеваний органов дыхания, выявляли сразу два, а иногда – три возбудителя. Одним из возбудителей при смешанном носительстве и при микст-инфекциях, как правило, был пневмококк. По всей вероятности, носительство пневмококков способствует колонизации других возбудителей. У больных ОРЗ основные возбудители были вирусной этиологии. Чаще вирусная инфекция развивалась у носителей пневмококков. С другой стороны, к некоторым больным ОРЗ вирусной этиологии через несколько дней после начала заболевания присоединялась пневмококковая инфекция. Роль пневмококков в этиологии ОРЗ, помимо их бактериологического выделения, была подтверждена серологически.

Заключение. Установлены симбиотические взаимоотношения пневмококков с другими возбудителями респираторных инфекций.

ПРИМЕНЕНИЕ ИММУНОТРОПНЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ И ПНЕВМОНИЙ У ВОЕННОСЛУЖАЩИХ

Жоголев С.Д., Жоголев К.Д., Журкин М.А., Харитонов М.А., Огарков П.И., Сбойчаков В.Б., Иванов В.В., Удальцов О.Е., Иваницков Ю.Г.

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

USE OF IMMUNOTROPISMICAL MEANS FOR PROPHYLAXIS OF ACUTE RESPIRATORY DISEASES AND PNEUMONIAS IN MILITARYMEN

Zhogolev S.D., Zhogolev K.D., Zhurkin M.A., Kharitonov M.A., Ogarkov P.I., Sboychakov V.B., Ivanov V.V., Udalt'sov O.E., Ivannikov Yu.G.

Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia

Пневмонии у военнослужащих нередко развиваются на фоне ОРЗ у лиц с пониженной резистентностью, наиболее часто – в первые 3 месяца после призыва. Помимо главенствующей роли пневмококков в этиологии пневмоний, определенное значение имеют другие возбудители бактериальной и вирусной природы. В этой связи, в дополнение к пневмококковой и гриппозной вакцинам, которые вводят новобранцам в соответствии с календарем прививок, целесообразно применять иммунокорректирующие и противовирусные средства.

Цель исследования – изучить эффективность применения иммунотропных средств в дополнение к пневмококковой и гриппозной вакцинам для профилактики пневмоний и ОРЗ.

Материалы и методы. 6 групп военнослужащих численностью 120-240 человек, дополнительно к вакцинации пневмококковой и гриппозной вакцинам, получали какое-либо из средств профилактики: 1 группа военнослужащих – имудон (2 таб. 3 раза в сут. 10 дней), 2 группа – бронхомунал (1 капс. 10 дней), 3 группа – цитовир-3 (1 капс. 3 раза в сут. 4 дня), 4 группа – арбидол (0,2 г 1 раз в сут. 10 дней), 5 группа – кагоцел (2 таб. 1 раз в сут. 2 дня, через 5 дней повтор – 4 цикла), 6 группа – амиксин (по 1 таб. 1 раз в нед. 6 недель). Через 1 и 3 месяца после начала применения препаратов сравнивали заболеваемость пневмониями, острыми бронхитами и ОРЗ военнослужащих в этих группах с заболеваемостью в группах сравнения, личный состав которых находился в тех же условиях, что и опытные группы, но получал только пневмококковую и гриппозную вакцины.

Результаты. Во всех группах, где помимо пневмококковой и гриппозной вакцин применяли дополнительные средства профилактики, заболеваемость пневмониями, острыми бронхитами и ОРЗ была ниже в 1,6-3,5 раза, чем в группах сравнения, где использовали только пневмококковую вакцину. Эффективность этих средств была наиболее выражена на протяжении первого месяца после начала их применения. Так, индекс эффективности имудона в отношении пневмонии через 1 и 3 месяца после начала приема составил 3,5 и 2,2 соответственно.

Заключение. Для профилактики пневмоний и ОРЗ среди новобранцев, помимо пневмококковой и гриппозной вакцин, целесообразно применение вакцинных иммуномодуляторов (таких, как имудон); иммунокорректирующих препаратов (цитовир-3); противовирусных средств (арбидол, кагоцел, амиксин) в первые дни после призыва.

ЭТИОЛОГИЯ ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ПНЕВМОНИЙ У ЛИЦ МОЛОДОГО ВОЗРАСТА В ОРГАНИЗОВАННЫХ КОЛЛЕКТИВАХ

Журкин М.А., Жоголев К.Д., Жоголев С.Д., Огарков П.И., Харитонов М.А., Сбойчаков В.Б., Иванов В.В., Удальцов О.Е., Иванников Ю.Г.

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

ETIOLOGY OF COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA IN YOUNG PERSONS OF ORGANIZED COLLECTIVES

Zhurkin M.A., Zhogolev K.D., Zhogolev S.D., Kharitonov M.A., Ogarkov P.I., Sboychakov V.B., Ivanov V.V., Udaltsov O.E., Ivannikov Yu.G.

Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia

Внебольничные пневмонии – одни из самых актуальных заболеваний военнослужащих. Для эффективной медикаментозной профилактики пневмоний в организованных коллективах и успешного лечения необходимо определение их этиологии.

Цель исследования – установить этиологию внебольничных пневмоний у военнослужащих по призыву в современный период.

Материалы и методы. С помощью современных методов диагностики (ПЦР, ИФА, иммунохроматографических экспресс-тестов) в период с ноября 2013 г. по январь 2015 г. обследовано 70 больных пневмонией, поступивших в клинику 1 кафедры терапии усовершенствования врачей Военно-медицинской академии. Все больные – лица мужского пола в возрасте 18-22 лет.

Результаты. У 50 больных пневмонией (71,4% от числа обследованных) обнаружили смешанную вирусно-бактериальную биоту. Выявлены следующие агенты вирусной природы: аденовирусы – у 53% больных, вирус гриппа типа А – у 10%, респираторно-синцитиальный вирус – у 27%, другие вирусы – у 10%, по 2-3 вирусных агента от одного пациента – у 30%. Агенты бактериальной природы определены: пневмококк – у 40% пациентов, гемофильная палочка – у 20%, микоплазма – у 10%, клебсиелла – у 5%, стафилококк золотистый – у 7%, ацинетобактер баумани – у 3%. У 20 человек (28,6% от числа обследованных) были обнаружены агенты только бактериальной природы. У пациентов с бактериальной пневмонией пневмококк (иногда с другими бактериями) отмечали в 55% случаев, гемофильную палочку – в 25%, микоплазму – в 15%, стафилококк золотистый – в 7%, клебсиеллу – в 7%.

Заключение. Внебольничные пневмонии у военнослужащих имеют преимущественно вирусно-бактериальную природу, что необходимо учитывать при лечении, назначая в этих случаях, наряду с антибиотиками, противовирусные средства, и при медикаментозной профилактике (вместе с пневмококковой вакциной следует применять противогриппозную вакцину, противовирусные и иммуностропные средства).

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОТИВИРУСНЫХ ПРЕПАРАТОВ В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ВИРУСНО-БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ

Журкин М.А., Харитонов М.А., Жоголев С.Д., Жоголев К.Д., Огарков П.И., Сбойчаков В.Б., Иванов В.В., Удальцов О.Е., Иванников Ю.Г.

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

STUDY OF EFFICIENCY OF USE OF ANTIVIRUS MEANS IN COMPLEX THERAPY OF VIRUS-BACTERIAL PNEUMONIA

Zhurkin M.A., Kharitonov M.A., Zhogolev S.D., Zhogolev K.D., Ogarkov P.I., Sboychakov V.B., Ivanov V.V., Udaltsov O.E., Ivannikov Yu.G.

Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia

Пневмония – одна из самых актуальных проблем медицины. Эффективность лечения пневмонии и профилактики развития таких осложнений, как острый респираторный дистресс-синдром, инфекционно-токсический шок, инфекционно-токсический миокардит, экссудативный плеврит, зависит от адекватной терапии.

Цель исследования – разработка комбинированных этиотропных схем лечения, оценка эффективности использования противовирусных препаратов в стартовой терапии вирусно-бактериальных пневмоний.

Материалы и методы. Больные с вирусно-бактериальной пневмонией были разделены на 2 группы. Больным основной группы (21 человек) с первых суток лечения проводили комбинированную противовирусную (рибавирин – 800 мг/день, ингавирин – 90 мг/день, осельтамивир – 150 мг/день) и антибактериальную (в соответствии с международными стандартами) терапию, в то время как пациентам контрольной группы (29 человек) назначали только стандартное антибактериальное лечение.

Результаты. Противовирусные препараты значительно повышали эффективность лечения. Если в контрольной группе разрешившие инфильтрации легочной ткани по данным рентгенографии наступало на 14-15 день, то в основной группе – уже на 11-12 день, а длительность лечения составила, соответственно, $33,2 \pm 2,1$ дня и $24,3 \pm 3,2$ дня. Осложнения наблюдали у 11 пациентов (37,9%) контрольной группы и только у 4 (19%) – основной группы. В контрольной группе 1 больной умер. В основной группе летальных случаев не было.

Отметим, что чем раньше назначали противовирусную терапию, тем легче протекало заболевание. У больных, получавших противовирусное лечение после 4-ого дня от начала заболевания, клиническая картина существенно не отличалась от клиники заболеваний в контрольной группе.

Заключение. Применение своевременной (не позднее 4 дня от начала заболевания) «адресной» противовирусной терапии в комбинации с антибактериальными препаратами увеличивает эффективность лечения больных вирусно-бактериальной пневмонией, сокращает развитие осложнений на 50% и предотвращает летальные исходы.

CANDIDA SPP. В СОСТАВЕ КИШЕЧНЫХ БИОЦЕНОЗОВ ПРИ ДИСБИОТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ КИШЕЧНИКА

Завгородняя Е.Ф., Сташкевич Л.А.

Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии, Россия

CANDIDA SPP. IN STRUCTURA OF INTESTINAL BIOCENOSES IN DYSBIOTIC CONDITION

Zavgorodnyaya E.F., Stashkevich L.A.

Khabarovsk research institute of epidemiology and microbiology, Russia

Цель исследования – определение видовой принадлежности и чувствительности к антимикотикам *Candida* spp. в составе кишечной микробиоты при дисбиотических состояниях кишечника у взрослых и детей.

Материал и методы. Исследовали микробиоту толстого отдела кишечника 1570 лиц, в том числе – 693 детей в возрасте от 1 мес. до 2-х лет, 397 – от 2-х до 14 лет и 486 взрослых, а также определяли видовую принадлежность изолированных от них грибов *Candida* spp. и чувствительность к антимикотикам 125 штаммов. Исследования микробиоты проводили по стандартной методике, видовую идентификацию *Candida* spp. – с помощью Hi Crom Candida Agar (Hi Media, Индия), чувствительность к антимикотикам – диско-диффузионным методом с использованием дисков производства НИИЭМ им. Пастера (Санкт-Петербург).

Результаты. Дисбиоз кишечника выявили у 91,3% лиц; он преобладал среди детей младшей возрастной группы. *Candida* spp. в количестве, превышающим возрастную норму, обнаружили у 25,8% детей этой группы, у 23,4% детей старшего возраста и у 29,8% взрослых, в основном, старше 55 лет. Наибольшее число (66,1%) *Candida* spp. изолировали из ассоциаций с различными условно-патогенными бактериями (*Klebsiella*, *S. aureus*, *Proteus*, *Enterobacter* и др.). Чаще всего грибково-бактериальные ассоциации выявляли от детей (особенно – раннего возраста), тогда как от 82,7% взрослых эти грибы выделяли в монокультуре.

Наиболее часто выделяли *C. albicans* (47,8%) и *C. glabrata* (37,1%); виды *krusei* и *tropicalis* обнаруживали в 11,8 и 3,3%. Аналогичная ситуация была характерна для каждой группы обследуемых, тогда как в наших более ранних исследованиях было установлено преобладание в группе детей старшего возраста и взрослых *C. glabrata*.

У большинства изученных штаммов *C. albicans* отмечали значительную чувствительность к клотримазолу (94,4%) и нистатину (85,5%), тогда как к интраконазолу и флуконазолу (в 68,7 и 68,2%) наблюдали выраженную устойчивость. *C. glabrata* были высокочувствительны к клотримазолу, нистатину и кетаконазолу (94,4, 81,6 и 62,4% соответственно) и в 94,4% – устойчивы к интраконазолу. *C. tropicalis* в 100,0 и 83,4% были чувствительны к препаратам полиенового ряда (нистатину) и азолового ряда (клотримазолу), тогда как к другим азолам – устойчивы.

Заключение. Выявлена значительная циркуляция *Candida* spp. при дисбиотических нарушениях кишечника (особенно – у детей раннего возраста и пожилых лиц). Чаще всего *Candida* spp. изолировали из грибково-бактериальных ассоциаций. Лидирующими видами были *C. albicans* и *C. glabrata*. Большинство штаммов исследуемых видов обладали выраженной чувствительностью к нистатину и клотримазолу, а *C. glabrata*, *C. tropicalis* и *C. krusei* – высокой устойчивостью к другим антимикотикам азолового ряда. Указанные данные могут быть востребованы в медицинской практике при выборе препаратов для лечения кишечных кандидозов, для которых дисбиотические нарушения являются предшествующей фазой заболевания.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ CANDIDA SPP.

Зачиняева А.В.¹, Сидельникова О.П.¹, Зачиняев Я.В.²

¹ Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова; ² Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия

BIOLOGICAL DESCRIPTION OF CANDIDA SPP. CLINICAL STRAINS

Zachinyeva A.V.¹, Sidelnikova O.P.¹, Zachinyev Ya.V.²

¹ Military Medical Academy named after S.M. Kirov; ² Russian State Pedagogical University named after A.I. Herzen, St. Petersburg, Russia

Цель работы – характеристика антибиотикорезистентности, комплекса факторов патогенности и персистенции клинических изолятов *Candida* spp.

Методы и средства. Исследовали штаммы грибов, выделенных от пациентов, находившихся на лечении в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) хирургического стационара. Все больные находились в ОРИТ более 48 часов и далее – в стационаре от 10 до 125 суток.

Посев материала (моча, мокрота, подключичный катетер) проводили на МПА с содержанием 5% крови, среду Уриселект-4 (Bio-Rad, США) и хромогенный агар (Laboratorios Conda S.A., Spain). Видовую принадлежность выделенных штаммов *Candida* определяли на основании результатов тест-системы AUXACOLOR 2 (BioRad, США).

Образование биоплёнок изучали на полистироловом планшете по методике (Демакова В.А., 2010) в нашей модификации: окрашенную раствором генцианвиолета биоплёнку бактерий экстрагировали этанолом, декантировали, разводили в 20 раз и измеряли оптическую плотность (ОП) на спектрофотометре ПЭ-5400 УФ при длине волны 560 нм.

Чувствительность к флуконазолу, амфотерицину В определяли методом диффузии в агар в соответствии с МУК 4.2.1890-04.

Результаты. Инфекционные осложнения грибковой этиологии развивались у пациентов, начиная с седьмых суток нахождения в ОРИТ. Больные получали интенсивную антибактериальную терапию, у всех стоял мочевого катетер.

Candida spp. были выделены из следующих субстратов в количестве 10⁵-10⁶ КОЕ/мл: мокроты – 12% образцов, мочи – 84%, подключичного катетера – 4%. Среди них доминирующими были штаммы *C. albicans* (64%), *C. tropicalis* (20%), *C. krusei* и *C. glabrata* (по 8%). Клинические изоляты *C. albicans* выделяли из мочи, мокроты и катетеров, тогда как *C. krusei*, *C. tropicalis* и *C. glabrata* – только из мочи. Чаще всего (в 54,5% случаев) грибы изолировали из клинического материала в ассоциациях, состоящих из 2-х или 3-х видов культур. Сохранялся приоритет *C. albicans* в составе ассоциаций с *Klebsiella* sp., *Acinetobacter* sp., *Escherichia coli*.

При изучении антимикотической чувствительности самую высокую у всех видов наблюдали к амфотерицину В (96%, p<0,001), наименьшую – к флуконазолу (28%, p<0,001).

В результате показано, что, независимо от чувствительности выделенных клинических изолятов *Cand*

ida spp., способность к образованию биоплёнок отмечали у 32% (p< 0,01) штаммов (табл.).

Таблица

Результаты плёнообразующей способности клинических изолятов Candida spp.

Микроорганизмы	Биомасса биоплёнки в ЕД оптической плотности (ОП ₅₆₀)					
	кол-во штаммов	низкая (< 0.5)	кол-во штаммов	средняя (0.5–1.0)	кол-во штаммов	высокая (> 1.0)
<i>C. albicans</i>	7	0,13±0,02	5	0,828±0,01	4	1,98±0,13
<i>C. tropicalis</i>	1	0,08	-	-	3	4,2±0,2
<i>C. krusei</i>	2	0,06±0,01	-	-	-	-
<i>C. glabrata</i>	-	-	1	0,82	1	1,34

Культуры, обладающие способностью образовывать плёнки, были выделены из мочи пациентов на 10-12 сутки пребывания в стационаре. Штаммы *C. tropicalis* обладали способностью к плёнообразованию только в монокультуре, тогда как изоляты *C. albicans* – как в монокультуре, так и в ассоциации с *Acetobacter* sp. и *E. coli*. Кроме того, плёнообразующие штаммы *Candida* spp. были резистентны к флуконазолу.

Выводы. Полученными данными подтверждена способность клинических изолятов *Candida* spp. формировать биоплёнки. Это приобретает особое значение в отделениях интенсивной терапии, хирургических стационарах, поскольку является причиной возникновения тяжёлых катетер-ассоциированных нозокомиальных инфекций - сепсисов.

Purpose of work – the characterization of antibiotic resistance, a complex of factors of pathogenicity and persistence of clinical isolates of *Candida* spp.

Methods and tools. We investigated the fungal strains, isolated from patients who were treated in the Intensive Care Unit (ICU) of the surgical hospital. All patients were in the ICU for more than 48 hours, and then – in the hospital from 10 to 125 days.

Inoculation of material (urine, sputum, subclavian catheter) was performed on the MPA containing 5% of blood, medium Uriselekt-4 (Bio-Rad, U.S.A.) and the chromogenic agar (Laboratorios Conda S.A., Spain). Species identification of *Candida* isolates was determined based on the results of the test system AUXACOLOR 2 (BioRad, U.S.A.).

Formation of biofilms was studied in polystyrene plates by method of Demakova V.A., 2010 in our modification: colored by solution of gencyanviolet biofilm of bacteria extracted with ethanol, then was decanted, diluted in 20 times and measured the optical density (OD) by a spectrophotometer PE-5400 UV at a wavelength of 560 nm.

Sensitivity to fluconazole, amphotericine B was determined by agar diffusion in accordance with the Methodical Recommendations 4.2.1890-04.

Results. Infectious complications of fungal etiology were found in patients after the seventh day of being in the ICU. Patients received intensive antibiotic therapy, all were urinary catheterized.

Candida spp. were isolated from these substrates in an amount of 10⁵ -10⁶ CFU / ml: sputum - 12% of the samples, urine - 84%, subclavian catheter - 4%. Among them the dominant strains were *C. albicans* (64%), *C. tropicalis* (20%), *C. krusei* and *C. glabrata* (8%). Clinical isolates of *C. albicans* were isolated from urine, sputum and catheters, whereas *C. krusei*, *C. tropicalis* and *C. glabrata* - only from the urine. Most often (in 54.5% of cases) fungi were isolated from clinical material in associations consisting of 2 or 3 species. *C. albicans* was most common species in associations with *Klebsiella* sp., *Acinetobacter* sp., *Escherichia coli*.

In the study of antimycotic sensitivity the highest percent of susceptibility was in all species was observed towards amphotericin B (96%, p<0.001), the lowest towards fluconazole (28%, p<0.001).

As a result it was shown that regardless of the sensitivity of selected clinical isolates of *Candida* spp., the ability to form the biofilms was pointed out by 32% (p<0.01) of strains (Table).

Table

Biofilm formation ability of clinical isolates of Candida spp.

Microorganisms	Biofilm biomass in units of optical density (OD ₅₆₀)					
	The number of strains	Low(<0.5)	The number of strains	Average (0.5-1.0)	The number of strains	High (> 1.0)
<i>C. albicans</i>	7	0,13 ± 0,02	5	0,828 ± 0,01	4	1,98 ± 0,13
<i>C. tropicalis</i>	1	0.08	-	-	3	4,2 ± 0,2

<i>C. krusei</i>	2	0,06 ± 0,01	-	-	-	-
<i>C. glabrata</i>	-	-	1	0,82	1	1,34

The cultures, possessing ability to form biofilms, were isolated from the urine of patients at 10-12 days of hospital stay. Strains of *C. tropicalis* possessed the ability to form biofilms in monoculture only, whereas the isolates of *C. albicans* in monoculture and in association with *Acetobacter* sp. and *E. coli*. Furthermore, the biofilm forming strains of *Candida* spp. were resistant to fluconazole.

Conclusions. The obtained data confirm the ability of *Candida* spp. clinical isolates to form biofilms. This is particularly important in the ICU, surgical hospitals, as there is the cause of appearance of severe catheter-associated nosocomial infections - sepsis.

АНАЛИЗ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРОБИОТИЧЕСКИХ И УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ ШТАММОВ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ДИСБИОЗА КИШЕЧНИКА

Золотарева А. А. (руководитель: Оришак Е.А.)

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

THE ANALYSIS OF ANTAGONISTIC ACTIVITY OF PROBIOTIC AND OPPORTUNISTIC STRAINS FOR CORRECTION OF INTESTINAL DYSBIOSIS

Zolotareva A.A. (scientific adviser: Orischak E.A.)

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

Цель – изучение *in vitro* антагонистической активности пробиотических и условно-патогенных микроорганизмов, выделенных от пациента, для подбора индивидуального лечения дисбиоза кишечника пробиотиками.

Методы и средства. Исследовали штаммы пробиотиков Биовестин (1), Флористин (2), Линекс (3), Бифиформ (4), Аципол (5) и условно-патогенных микроорганизмов, выделенных из фекалий пациентов с дисбиозом кишечника. Использовали метод двухслойного агара с посевом по Gold для определения качественной и количественной активности пробиотических микроорганизмов.

Результаты и обсуждение. Выявили высокую антагонистическую активность пробиотиков Линекс и Бифиформ к штаммам *Enterobacter agglomerans* и *Citrobacter diversus* (пациент №1), *Klebsiella pneumoniae* и *Citrobacter freundii* (пациент №10), что является показателем целесообразности приема данных препаратов. У пациента №4, кроме данных пробиотиков, был эффективен также Биовестин к штаммам *Enterobacter cloacae* и *Citrobacter freundii*. При оценке антагонизма пробиотика 1 к штамму *Candida* spp., выделенному при исследовании на дисбиоз № 7, отмечали интенсивность подавления условно-патогенной микробиоты в 10^6 раз, что служит основой высокой эффективности препарата. При исследовании пациента №5 наблюдали высокую антагонистическую активность Флористина к *Staphylococcus aureus* и *Candida* spp., но ее отсутствие к *Staphylococcus epidermidis*, выявленного у данного обследуемого больного. Следовательно, необходимо провести дополнительное исследование в отношении других пробиотиков для назначения лечения. К штамму *Staphylococcus aureus*, выделенному при исследовании на дисбиоз №8, обнаруженная антагонистическая активность Биовестина незначительна, использование препарата нецелесообразно, у других препаратов антагонизм отсутствовал. Среднюю антагонистическую активность Биовестин проявил в отношении штамма *Esherichia coli* с гемолитическими свойствами, выделенного у пациента №3.

Заключение. 1) Характер взаимодействия микроорганизмов связан с их индивидуальными свойствами, которые можно изучить *in vitro*. 2) Назначение препарата целесообразно при интенсивности подавления УПМ, по сравнению с контролем, в 10^5 - 10^9 раз – высокая степень антагонистической активности.

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ШТАММОВ LEPTOSPIRA SPP. МЕТОДОМ MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Зуева Е.В., Стоянова Н.А., Токаревич Н.К., Тотолян А.А.

НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

DIFFERENTIATION OF LEPTOSPIRA SPP. STRAINS BY MALDI-TOF MASS SPECTROMETRY

Zueva E.V., Stoyanova N.A., Tokarevich N. K., Totolian A.A.

Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russia

Цель – создание классификационной модели сероваров *Leptospira* spp. с помощью программного обеспечения «ClinProTools» 3.0 (Bruker Daltonics, Германия) и оценка возможности использования метода время пролётной матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (MALDI-TOF) масс-спектрометрии для дифференциации штаммов лептоспир внутри рода *Leptospira*.

Материалы и методы. В исследовании использовали 10 референсных штаммов, применяемых в качестве антигенов в реакции микроскопической агглютинации, относящиеся к патогенным видам *L. interrogans*, *L. borgpetersenii*, *L. kirschneri* и непатогенному – *L. biflexa*, из коллекции Санкт-Петербургского НИИ им. Пастера. Штаммы культивировали в течение 10 дней в среде Терских при 28 °С. Экстракты клеток были получены этанол / муравьино-кислотным методом. Раствор α-циано-4-гидроксикоричной кислоты использовали в качестве матрицы. Масс-спектры были получены на масс-спектрометре «Microflex RLF» (Bruker Daltonics, Германия). Внешнее подтверждение тест-модели было проведено с помощью новых спектров, полученных от каждого референсного штамма при их повторном пере-се-ве.

Результаты. Значения показателей кросс-подтверждения и подтверждающей способности математической модели, построенной с применением генетического алгоритма, составили 99,14% и 100% соответственно. Интегральный регион этой модели содержал 11 биомаркерных пиков (m/z 2959, 3447, 3548, 3764, 3895, 5221, 5917, 6173, 6701, 7013, 8364) для классификации сероваров. Результатами внешнего подтверждения показана 100% правильная классификация сероваров Sejroe, Ballum, Tarassovi, Copenhageni, Mozdoc, Grippotyphosa и Patoc, что служит показателем высокой прогностической способности модели в этих классах. В то же время, по данным верификационной матрицы, часть спектров от сероваров Sanicola и Roma классифицировали как серовар Patoc, что, возможно, связано с перекрёстной серологической реактивностью *L. biflexa* серовара Patoc с патогенными лептоспирами.

Заключение. Метод MALDI-TOF масс-спектрометрии, в сочетании с использованием классификационной модели, может быть полезным инструментом для внутри лабораторного контроля постоянства пересеваемых культур лептоспир.

РОЛЬ СИСТЕМЫ «QUORUM SENSING» ПРИ УРОГЕНИТАЛЬНОМ ХЛАМИДИОЗЕ

Зур Н.В., Миронов А.Ю.

Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Москва, Россия

THE ROLE OF THE «QUORUM SENSING» SYSTEM WITH UROGENITAL CHLAMYDIOSIS

Zur N.V., Mironov A.Yu.

N.G. Gabrichevsky Moscow Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

Цель – индикация сигнальных низкомолекулярных соединений – активаторов «кооперативной чувствительности» (системы «Quorum sensing» - QS) микробов (лактонов, хинолонов, фурановых эфиров) при хроническом урогенитальном хламидиозе.

Материалы и методы. Исследовали периферическую кровь от 41 больного с хроническими инфекционно-воспалительными заболеваниями (ХИВЗ) урогенитальной системы сочетанной хламидийной этиологии методами газовой хроматографии и масс-спектрометрии (ГХ-МС). Контрольную группу составили 40 клинически здоровых пациентов и 31 больной с хирургическим сепсисом.

Результаты. В периферической крови пациентов определены активаторы QS – лактоны (0,06-0,26 ммоль/л), хинолоны (0,07-0,25 ммоль/л), фурановые эфиры бора (0,07-0,19 ммоль/л). Содержание указанных QS у больных существенно превышало (в 18-45 раз) показатели здоровых обследованных лиц, пороговые значения (в 11-25 раз) и было максимально приближено к значениям активаторов QS в крови больных сепсисом преимущественно тяжелой и крайне тяжелой степеней тяжести. Последнее, по нашим данным, обеспечивает группе микроорганизмов при хронической сочетанной хламидийной инфекции возможность запуска генов патогенности с развитием генерализации активного инфекционно-воспалительного процесса на фоне резкого снижения системы антиинфекционной резистентности организма.

Выводы. Определение активаторов QS микробов в крови больных с ХИВЗ урогенитальной системы сочетанной хламидийной этиологии является молекулярным маркером генерализации инфекции при хроническом урогенитальном хламидиозе и септикоподобного течения хронической генерализованной хламидийной инфекции.

The **purpose** of the study is the determination of the low-molecular-weight signaling compounds - the activators of the bacterial quorum sensing (lactones, quinolones, furanosyl esters) in chronic urogenital chlamydiosis.

Materials and methods. We analyzed the peripheral blood of 41 patients with chronic infectious inflammatory diseases (CIID) of the genitourinary system caused by concomitant chlamydial infection using methods of gas chromatography and mass-spectrometry (GC-MS). The control group included 40 clinically healthy subjects and 31 patients with surgical sepsis.

Results. The quorum sensing activators were detected in the peripheral blood of patients - lactones (0.06-0.26 mmol/l), quinolones (0.07-0.25 mmol/l), furanosyl borate esters (0.07-0.19 mmol/l). The concentrations of these quorum sensing activators in the blood of patients were significantly higher (18-45-fold) than those in healthy subjects and the threshold values (11-25-fold) and were very close to activators concentrations in the blood of patients with severe and extremely severe surgical sepsis. The latter, according to our data, gives the group of microorganisms during chronic concomitant chlamydial infection an opportunity to activate pathogenicity genes with subsequent development of generalization of the active infectious inflammatory process in the conditions of the significant decline of anti-infective resistance of the body.

Conclusions. The presence of the bacterial QS activators in the blood of patients with CIID of the urogenital system caused by concomitant chlamydial infection is the molecular marker of the generalization of infection in chronic urogenital chlamydiosis and sepsis-like course of chronic generalized chlamydial infection.

СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННОЙ ПАТОЛОГИИ ПОЧЕК ПРИ УРОГЕНИТАЛЬНОМ ХЛАМИДИОЗЕ

Зур Н.В., Миронов А.Ю.

Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Москва, Россия

A DIAGNOSTIC TECHNIQUE FOR INFECTIVE RENAL PATHOLOGY WITH UROGENITAL CHLAMYDIOSIS

Zur N.V., Mironov A.Yu.

N.G. Gabrichevsky Moscow Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

Цель – разработка способа индикации молекулярных маркеров поражения почек при хронической генерализованной хламидийной инфекции (ХГХИ).

Материалы и методы. Исследовали биологический материал (моча, соскобы слизистой оболочки уретры) при ХГХИ у 41 больного с хроническими инфекционно-воспалительными заболеваниями (ХИВЗ) урогенитальной системы сочетанной хламидийной этиологии методами газовой хроматографии и масс-спектрометрии (ГХ-МС). Контрольную группу составили 40 клинически здоровых с отсутствием лабораторно-инструментальных признаков инфекционно-воспалительных заболеваний. Всего изучено 567 проб.

Результаты. Впервые были определены ГХ-МС показатели мочи: 2-пропанамид (0,002-0,06 ммоль/л), N-амино-оксиметиламид (0,002-0,06 ммоль/л), 2-метил-5-(1-метил-этил)-фенол (0,003-0,11

ммоль/л) и 4-4-дигидроокси-дифенил-сульфон (0,002-0,05 ммоль/л), служащие показателем в совокупности наличия инфекционной патологии почек, вызванной *Chlamydia trachomatis*, до начала манифестации развернутых клинических проявлений заболевания (патент РФ на изобретение № 2539386). Молекулярные маркеры почечной патологии при ХГХИ имеют высокий уровень диагностической чувствительности (60,7-88,8%), диагностической специфичности (50,0-95,0%), диагностической предсказуемости положительной (60,0-94,4%), диагностической предсказуемости отрицательной (60,2-87,8%).

Выводы. Использование методов ГХ-МС помогает повысить эффективность диагностики ХИВЗ урогенитальной системы сочетанной хламидийной этиологии с определением молекулярных маркеров органов поражений. Ранняя этиологическая диагностика специфической инфекционной почечной патологии важна для обеспечения эффективности ее терапии.

The **purpose** of this study - to develop a method for determination of molecular markers of kidney involvement in chronic generalized chlamydial infection (CGCI).

Materials and methods. We investigated biological material (urine, scrapings from urethral mucosa) from 41 CGCI patients with chronic infectious inflammatory diseases (CIID) of the genitourinary system caused by concomitant chlamydial infection using methods of gas chromatography and mass-spectrometry (GC-MS). The control group included 40 clinically healthy subjects without any laboratory and instrumental signs of infectious inflammatory diseases. A total of 567 samples were studied.

Results. A GC-MS parameters of urine were determined for the first time: 2-propanamide (0.002-0.06 mmol/l), N-amino-oxymethylamide (0.002-0.06 mmol/l), 2-methyl-5-(1-methyl-ethyl)-phenol (0.003-0.11 mmol/l) and 4,4- dihydroxy-diphenyl-sulfone (0.002-0.05 mmol/l) which serve as an indicator of the presence of infectious renal pathology caused by *Chlamydia trachomatis*, before the manifestation of clinically overt disease (patent of the RF for an invention No. 2539386). Molecular markers of renal pathology in CGCI have a high level of diagnostic sensitivity (60.7-88.8%) and specificity (50.0-95.0%); diagnostic positive (60.0-94.4%) and negative (60.2-87.8%) predictive values.

Conclusions. The use of GC-MS methods helps to improve the diagnosis efficiency of CIID of the genitourinary system caused by concomitant chlamydial infection by determination of molecular markers of organ involvement. Early etiological diagnosis of specific infectious renal pathology is important for ensuring the treatment effectiveness.

ВОЗМОЖНОСТИ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕТОДОВ В ПРОГРАММАХ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО СКРИНИНГА

Зыкова Т.А., Богомолова О.А.

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт МЗ РФ, Ростов-на-Дону, Россия

THE POSSIBILITY OF MOLECULAR METHODS IN PROGRAMS AND EPIDEMIOLOGICAL SCREENING

Zykova T. A., Bogomolova O. A.

Rostov Cancer Research Institute, Rostov-on-don, Russia

Цель исследования – оценка эффективности использования молекулярных методов в программах эпидемиологического скрининга.

Методы. Изучали частоту выявления микроорганизмов с наиболее значимыми механизмами антибиотикорезистентности; частоту назального носительства *MRSA* у медицинского персонала и пациентов на примере отделения абдоминальной онкологии; частоту колонизации *Candida* spp. слизистой оболочки зева госпитализированных пациентов на базе отделения детской онкологии и онкогематологии. Выявление генов *vanA* и *vanB* у энтерококков, генов пенициллиназ (групп TEM, CTX-M), карбапенемаз групп KPC и OXA-48-подобных, металло-β-лактамаз групп VIM, IMP и NDM в изолятах клинически значимых грамотрицательных бактерий, карбапенемаз групп OXA-23, OXA-58, OXA-40-подобных у изолятов *Acinetobacter baumannii*, определение *MRSA*, *Candida* spp. проводили методом ПЦР в режиме реального времени.

Результаты. Ванкомицинрезистентные энтерококки обнаружили у 9% изолятов, *MRSA* – в 7,7% образцов клинического материала.

Гены β-лактамаз класса CTX-M выявили у 47,8% изолятов се-

мейства *Enterobacteriaceae*, гены класса TEM – у 43,5%. Гены карбапенемаз OXA-48 отмечали у двух изолятов *Klebsiella pneumoniae* (5,9%), ген группы VIM – у двух изолятов *Pseudomonas aeruginosa* (4,5%). Гены, кодирующие карбапенемазы групп KPC, IMP, NDM, у грамотрицательных бактерий не найдены. Из 29 исследованных изолятов *A. baumannii*, резистентных к карбапенемам, ген OXA-40-подобных карбапенемаз обнаружили у 86,2%, OXA-23 – у 10,3%. Наличие генов карбапенемаз OXA-40 было установлено также у трех культур *Acinetobacter*, изолированных из образцов внешней больницы среды.

При поступлении в отделение у 56% пациентов наблюдали колонизацию метициллинрезистентными стафилококками; колонизацию MRSA – у 12%, коагулазонегативные стафилококки, несущие ген *mecA*, – у 54,7%. Среди медицинского персонала уровень носительства MRSA составил от 8,6% до 11,6%.

Общий уровень колонизации слизистой оболочки зева *Candida* spp. у обследованных лиц – 23,4%, из них: *C. albicans* – 80,0%, *C. krusei* – 13,3%, одновременно *C. albicans* и *C. krusei* – 6,7%.

Выводы. Использование молекулярных методов помогает осуществлять эффективный надзор за распространением микроорганизмов с эпидемиологически значимыми механизмами антибиотикорезистентности и быстро проводить рациональные разграничительные и противоэпидемические мероприятия.

The purpose of the study was to assess the effectiveness of molecular methods in epidemiologic screening programs.

Methods. It was studied the frequency of detection of microorganisms with the most significant antibiotic resistance mechanisms, the frequency of nasal carriage of MRSA in medical staff and patients of the Department of abdominal oncology and the frequency of *Candida* spp. colonization in pharyngeal mucosa of patients of Department of pediatric oncology and oncohematology. Detection of *vanA* and *vanB* genes in enterococci, penicillinase genes (TEM and CTX-M), KPC and OXA-48-like carbapenemases, metallo- β -lactamases (VIM, IMP and NDM) in isolates of clinically significant gram-negative bacteria, detection of OXA-23-like, OXA-58-like and OXA-40-like carbapenemases in isolates of *Acinetobacter baumannii*, identification of MRSA and *Candida* spp. were performed by real-time PCR.

Results. Vancomycin-resistant enterococci were found in 9% of the isolates, MRSA – in 7.7% of clinical samples. CTX-M β -lactamase genes were detected in 47.8% of *Enterobacteriaceae* isolates, TEM genes – in 43.5%. Genes of OXA-48-like carbapenemases were found in 2 *Klebsiella pneumoniae* isolates (5.9%), VIM genes – in 2 *Pseudomonas aeruginosa* isolates (4.5%). Carbapenemase encoding genes KPC, IMP and NDM were not found in gram-negative bacteria. OXA-40-like carbapenemase genes were observed in 86.2% of 29 studied carbapenem-resistant *A. baumannii* isolates, OXA-23 – in 10.3%. Presence of OXA-40 carbapenemase genes was detected in 3 *Acinetobacter* cultures isolated from the samples of external hospital environment.

On hospitalization, 56% of the patients showed methicillin-resistant staphylococci colonization, 12% – MRSA colonization; coagulase-negative staphylococci carrying *mecA* gene were found in 54.7%. MRSA carriage level among medical personnel was 8.6-11.6%.

Candida spp. colonization of pharyngeal mucosa in hospitalized patients was 23.4%. *C. albicans* amounted to 80.0% of them, *C. krusei* – 13.3%, combined *C. albicans* and *C. krusei* colonization – 6.7%.

Conclusion. Molecular methods help in monitoring the spread of microorganisms with epidemiologically significant mechanisms of antibiotic resistance and allow rapid rational isolation and antiepidemic measures.

ЭТИОЛОГИЯ ПНЕВМОНИЙ В ОНКОЛОГИЧЕСКОМ СТАЦИОНАРЕ

Зыкова Т.А., Туманян С.В., Богомолова О.А., Панова Н.И.

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт МЗ РФ, Ростов-на-Дону, Россия

ETIOLOGY OF PNEUMONIAS IN CANCER HOSPITAL

Zykova T.A., Tumanyan S.V., Bogomolova O.A., Panova N.I.

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Нозокомиальные пневмонии – одно из наиболее часто встречающихся инфекционных осложнений у онкологических больных.

Цель исследования – изучение пейзажа микробиоты, выделенной у пациентов с пневмонией в онкологическом стационаре.

Материалы и методы. Исследовали образцы мокроты и промывных вод бронхов. Идентификацию и определение чувствительности проводили с помощью автоматической системы VITEK 2 (bioMérieux, Франция). Выявление генов карбапенемаз групп KPC и OXA-подобных, металло- β -лактамаз групп VIM, IMP, NDM осуществляли методом ПЦР в режиме реального времени. Обследовано 25 пациентов.

Результаты. Изолировали 51 культуру. Грамотрицательная микробиота составила 47,1%, грамположительная – 27,5%, грибы – 25,5%. Среди грамотрицательных микроорганизмов выявили: *Acinetobacter baumannii* – 45,8%, *Pseudomonas aeruginosa* – 20,8%, *Klebsiella pneumoniae* – 16,7%, *Escherichia coli* – 8,3%; среди грамположительной микробиоты: *Staphylococcus aureus* – 21,4%, коагулазонегативные стафилококки – 28,6%, энтерококки – 42,9%, стрептококки – 7,1%. На долю *Candida* spp. пришлось 92,3%, в том числе: *C. albicans* – 53,8%, *C. glabrata* – 23,0%, *C. tropicalis* – 15,3%, *C. dublinensis* – 7,7%.

Все изоляты *P. aeruginosa* и *A. baumannii* обладали резистентностью к цефалоспорином, фторхинолонам и карбапенемам. Наиболее активным из группы аминогликозидов в отношении *A. baumannii* был тобрамицин. Абсолютное большинство изолятов *A. baumannii* имели ген OXA-40-подобных карбапенемаз. Гены карбапенемаз (KPC, OXA-48), металло- β -лактамаз (VIM, IMP, NDM) у *P. aeruginosa* не выявляли. 66,7% изолятов семейства *Enterobacteriaceae* обладали резистентностью к цефалоспорином 4 поколения, 60,0% – к фторхинолонам. Все изоляты семейства *Enterobacteriaceae* были чувствительны к карбапенемам и аминогликозидам. Наибольшей чувствительностью в отношении стафилококков и энтерококков обладали линезолид, ванкомицин и тайгециклин.

Выводы. У большинства пациентов с инфекциями нижних дыхательных путей выделяются клинически значимые микроорганизмы. Лидирующее место среди них принадлежит неферментирующим грамотрицательным бактериям, обладающим множественной антибиотикорезистентностью.

Nosocomial pneumonia is one of the most frequent infectious complications in oncological patients.

The purpose of the study was to analyze microbiota in patients with pneumonia in a cancer hospital.

Methods. Samples of sputum and bronchial washings were used as material for the study. Identification and sensitivity determination were performed using VITEK2 automated system (bioMérieux, France). KPC and OXA-like carbapenemase and metallo- β -lactamase (VIM, IMP and NDM) genes were detected by real-time PCR. 25 patients were examined.

Results. 51 cultures were isolated. Gram-negative microbiota amounted to 47.1%, gram-positive microbiota – to 27.5%, fungi – to 25.5%. Among gram-negative microorganisms *Acinetobacter baumannii* were isolated in 45.8% cases, *Pseudomonas aeruginosa* – in 20.8%, *Klebsiella pneumoniae* – in 16.7%, *Escherichia coli* – in 8.3%; among gram-positive microbiota *Staphylococcus aureus* – in 21.4% cases, coagulase-negative staphylococci – in 28.6%, enterococci – in 42.9%, streptococci – in 7.1%. *Candida* spp. amounted to 92.3%, including *C. albicans* – 53.8%, *C. glabrata* – 23.0%, *C. tropicalis* – 15.3% and *C. dublinensis* – 7.7%.

All *P. aeruginosa* and *A. baumannii* isolates were resistant to cephalosporins, fluoroquinolones and carbapenems. In the aminoglycoside group, tobramycin was the most active against *A. baumannii*. The absolute majority of *A. baumannii* isolates had the gene of OXA-40-like carbapenemases. Carbapenemase (KPC, OXA-48) and metallo- β -lactamase (VIM, IMP and NDM) genes were not detected in *P. aeruginosa*. 66.7% of *Enterobacteriaceae* isolates were resistant to the 4th generation cephalosporins, 60.0% - to fluoroquinolones. All *Enterobacteriaceae* isolates were sensitive to carbapenems and aminoglycosides. Linezolid, vancomycin and tigecycline were the most active against staphylococci and enterococci.

Conclusion. Clinically significant microorganisms are detected in the majority of patients with lower respiratory tract infections. Nonfermentable gram-negative bacteria, which are multiple antibiotics resistant, prevail among them.

ИНВАЗИВНЫЙ АСПЕРГИЛЛЕЗ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ЛЕЙКОЗОМ

Зюзгин И.С.^{1,2}, Рябыкина О.Е.², Ружинская О.С.², Шадринова О.В.³, Хостелиди С.Н.³, Борзова Ю.В.³, Игнатьева С.М.³, Богомолова Т.С.³, Попова М.О.⁴, Бондаренко С.Н.⁴, Зубаровская Л.С.⁴, Афанасьев Б.В.⁴, Клишко Н.Н.^{3,4}

¹НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова; ²Ленинградская областная клиническая больница; ³Северо-западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова; ⁴ Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, Санкт-Петербург; Россия

INVASIVE ASPERGILLOSIS IN PATIENTS WITH ACUTE LEUKEMIA

Zyuzgin I.^{1,2}, Raybykina O.², Ruzhinskaya O.², Shadrivova O.³, Khostelidi S.³, Borzova Y.³, Ignatyeva S.³, Bogomolova T.³, Popova M.⁴, Bondarenko S.⁴, Zubarovskaya L.⁴, Afanasyev B.⁴, Klimko N.^{3,4}

¹Petrov Research Institute of Oncology; ²Leningrad Regional Clinical Hospital; ³North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov; ⁴Raisa Gorbacheva Memorial Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation, Pavlov State Medical University of Saint-Petersburg, St. Petersburg, Russia

Цель – определение частоты и сроков возникновения инвазивного аспергиллеза (ИА) у больных острыми лейкозами при проведении полихимиотерапии (ПХТ) и трансплантации аллогенных стволовых клеток (алло-ТГСК), а также изучение влияния развития ИА на результаты лечения острых лейкозов.

Материалы и методы. В исследование включено 180 взрослых пациентов с острым миелобластным лейкозом (ОМЛ – 150) и острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ – 30), которым проводили ПХТ в качестве индукции (ОМЛ n=150; ОЛЛ n=30) и консолидации ремиссии (ОМЛ: 2-й курс n=145, 3-й курс n=140, 4-й курс n=100; ОЛЛ: 3-4-й курс n=29, 5-6-й курс n=28, 7-8-й курс n=22) в отделении онкогематологии №2 ЛОКБ в период с 2003 по 2013 гг. Алло-ТГСК была выполнена у 6,7% пациентов в клинике НИИДОГ и Т им. Р.М. Горбачевой, СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. Медиана возраста составила 33 года (18-67), соотношение мужчин/женщин – 101/79. ПХТ осуществляли по стандартным протоколам: при ОМЛ – на основе высокодозного цитарабина, ОЛЛ – высокодозного циклофосфана. Для диагностики ИА применяли критерии EORTC/MSG 2008.

Результаты. Частота развития ИА у больных острым лейкозом составила 25,6%: ОМЛ – 26% (39/150), ОЛЛ – 23,3% (7/30). Согласно критериям EORTC/MSG 2008 г., «вероятный» ИА диагностировали у 89% (41/46) пациентов, «доказанный» – у 11% (5/46). Определены сроки развития ИА в ходе лечения острых лейкозов и относительная частота развития ИА на каждом этапе лечения.

Наибольшую частоту развития ИА у больных ОМЛ наблюдали при химиорезистентном течении и лечении рецидивов ОМЛ (25% и 29%), кроме того, группу риска развития ИА составили пациенты с ОМЛ в во время индукции ремиссии (1-й курс ПХТ) – 11%. При ОЛЛ частота развития ИА в ходе индукции ремиссии (1-2-й курсы ПХТ) – 10%, наибольшим этот показатель был (14%) был при проведении 7-го и 8-го курсов ПХТ. Алло-ТГСК провели 12 пациентам с ОМЛ (8) и ОЛЛ (4), у 11 из них ИА был диагностирован до ТГСК. У 5 пациентов диагностировали рецидив/прогрессирование ИА, у 3 больных в посттрансплантационном периоде – новые инвазивные микозы, обусловленные *Candida krusei*, *Paecilomyces variotii* и *Trichosporon capitatum*, что, в большинстве случаев (6/8), было связано с рецидивом острого лейкоза. Новых случаев ИА после алло-ТГСК не было выявлено. Общая выживаемость пациентов с ОМЛ в течение 1 года от начала ПХТ составила 69%, с ОЛЛ – 60%; развитие ИА не влияло на исход лечения (ОМЛ: 71% без ИА vs 67% с ИА; ОЛЛ: 63% без ИА vs 57% с ИА).

Заключение. Частота ИА у больных острыми лейкозами составила 25,6%, значимо не различалась при ОМЛ и ОЛЛ. ИА при лечении ОМЛ развивался чаще в ходе индукции ремиссии (первой, второй, резистентность), ОЛЛ – чаще в поздние сроки от начала лечения. Развитие ИА у больных острым лейкозом не ухудшало эффективность лечения.

ХАРАКТЕРИСТИКА СПЕКТРА БАКТЕРИЙ-ВОЗБУДИТЕЛЕЙ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ОСТЕОМИЕЛИТА ПОЗВОНОЧНИКА

Иноземцева А.И.¹, Зубрий О.Н.², Соловьева Н.С.¹, Мякотина Е.Н.¹, Маничева О.А.¹

¹СПб НИИ фтизиопульмонологии» МЗ РФ, ²СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

CHARACTERIZATION OF THE BACTERIA-PATHOGENS SPECTRUM OF THE SPINAL CORD NON-SPECIFIC OSTEOMYELITIS

Inozemtseva A.I.¹, Zubrii O.N.², Solovieva N.S.¹, Mjacobina E.N.¹, Manicheva O.A.¹

¹ St.Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology, ²North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

Цель – оценить частотный спектр возбудителей неспецифического остеомиелита позвоночника (НОП) и охарактеризовать антибиотикорезистентность наиболее значимых этиологических агентов.

Материал и методы. Формирование исследуемой группы пациентов провели на основании верифицированного патоморфологическим методом диагноза «неспецифический остеомиелит позвоночника». Проанализировали 147 проб диагностического материала от 115 пациентов, прооперированных в клинике СПб НИИФ в 2011-2013 гг. 32 пациента были прооперированы неоднократно. Выделение и идентификацию возбудителя проводили в соответствии со стандартными операционными процедурами. Антибиотикорезистентность определяли диско-диффузионным методом, использовали сертифицированные диски фирмы Oxoid (Англия).

Результаты. В общей сложности, выделили 147 штаммов: 127 (86,4%) –грамположительных, 20 (13,6%) – грамтрицательных. Частотное распределение среди грамположительных бактерий было следующим: *Staphylococcus aureus* – 78,0%, *S. epidermidis* – 17,3%, *Enterococcus faecalis* – 2,4%, *Streptococcus haemolyticus* – 1,6%. Среди грамтрицательных микроорганизмов превалировало сем. *Enterobacteriaceae* (70,0%), к неферментирующим бактериям отнесли 30,0% выделенных штаммов.

При анализе антибиотикорезистентности основных групп возбудителей НОП выявили следующие закономерности. 12 из 99 штаммов *S. aureus* (12,1%) были чувствительны ко всем испытываемым антибиотикам. Обнаружили резистентность к пенициллину у 87,9% штаммов, к оксациллину (MRSA) – у 40,4%, к рифампицину – у 48,5%, к фторхинолонам – у 29,3%, к макролидам – у 23,2%, к цефалоспорином – у 32,4%. Из 22 штаммов *S. epidermidis* только 2 были чувствительными. Частота резистентности к пенициллину у бактерий этого вида достигала 81,8%, к рифампицину – 63,6%, к фторхинолонам – 31,8%, к макролидам – 59,1%, к цефалоспорином первого поколения – 41,6%. Все грамположительные штаммы были чувствительны к ванкомицину и линезолиду. Из 14 штаммов, принадлежащих к сем. *Enterobacteriaceae*, 6 (42,8%) были чувствительны ко всем антибиотикам. Устойчивость к амоксиклаву регистрировали в 57,1% случаев, к фторхинолонам – в 50,0%, к карбопенемам – в 14,3%, к цефалоспорином третьего поколения – в 42,8%, к аминогликозидам – в 50,0%.

Выводы. Микроорганизмы рода *Staphylococcus* (*S. aureus*, *S. epidermidis*) являются ведущими этиологическими агентами НОП. Для возбудителей НОП характерна высокая частота резистентности: 87,9% грамположительных и 57,1% грамтрицательных штаммов обладали устойчивостью хотя бы к одному антибиотику.

АЛЛОГЕННАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТК ПАЦИЕНТУ С ПРЕДШЕСТВУЮЩИМ ИНВАЗИВНЫМ ГРИБКОВЫМ ЗАБОЛЕВАНИЕМ

Ильяс Соулайман¹, Попова М.², Волкова А.², Бондарчук С.³, Вавилов В.², Бондаренко С.², Слесарчук О.², Смирнова А.², Пинегина О.⁴, Шадринова О.⁵, Хостелиди С.⁵, Игнатьева С.⁶, Богомолова Т.⁶, Зубаровская Л.², Клишко Н.⁵, Афанасьев Б.²

¹ Отделение гематологии и трансплантации костного мозга, Госпиталь Тишрин, Дамаск, Сирийская Арабская Республика;

² Институт детской онкологии, гематологии и трансплантации им Р. М. Горбачевой, I ГМУ им. Павлова, Санкт-Петербург; ³ Военно-Медицинская Академия, Санкт-Петербург; ⁴ I ГМУ им. Павлова, Санкт-Петербург; ⁵ Северо-Западный Государственный Медицинский Университет, Санкт-Петербург; ⁶ НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, Санкт-Петербург, Россия

PERFORM ALLOGENEIC HEMATOPOIETIC STEM CELLS TRANSPLANTATION FOR PATIENT WHO HAD PRIOR INVASIVE FUNGAL DISEASE

Elias Soulaïman S.¹, Popova M.², Volkova A.², Bondarchuk S.³, Vavilov V.², Bondarenko S.², Slesarchuk O.², Smirnova A.², Pinegina O.⁴, Shadrivova O.⁵, Khostelidi S.⁵, Ignatyeva S.⁶, Bogomolova T.⁶, Zubarovskaya L.², Klimko N.⁵, Afanasyev B.²

¹ Hematology and Bone Marrow Transplantation Department, Tishreen Hospital, Damascus, Syrian Arab Republic; ² R.M. Gorbacheva Memorial Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation of Pavlov State Medical University, St. Petersburg; ³ Military Medical Academy, St. Petersburg; ⁴ Pavlov State Medical University, St. Petersburg; ⁵ North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg; ⁶ Kashkin Research Institute of Medical Mycology, St. Petersburg, Russia

Aim – to assess impact of prior invasive fungal disease (IFD) on the overall survival (OS) in allogeneic haematopoietic stem cell transplantation (Allo-HSCT) recipient, and identify risk factors for relapse or progression prior IFD, or a new IFD episode after Allo-HSCT.

Materials and methods. In retrospective study have included 148 Allo-HSCT for 137 patients in Raisa Gorbacheva Memorial Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation, from January 2013 to December 2013. Median age of patients 27 years (1-67 years), most of them had high-risk acute leukemia (AML: 37.2%, ALL: 35.8%), gender: 76 males. Allo-HSCT from HLA-matched unrelated donor was performed in 71.7%, HLA-matched related donor – 14.9%, haplo – 13.5%, predominantly with reduce intensity conditioning regimen (73%). The diagnosis of «probable» and «proven» IFD and the response to antifungal therapy (complete response – CR, partial response – PR, stable) were evaluated according to the EORTC/MSG 2008 criteria. The term «Active» IFD was used for the IFD diagnosed just before the transplant. Fungal free survival (FFS – survival without any events: relapse, progression, and new IFD episode) at 12 weeks after Allo-HSCT was assessed with Kaplan-Meier method.

Results. Incidence of proven (20.6%, n=6) and probable (79.3%, n=23) IFD before Allo-HSCT was 19.5% (29/148). Most of patients had invasive aspergillosis (IA) – 82.8% (24), invasive candidosis (IC) – 24.1% (7), two patients had two IFD due to *Aspergillus* + *Candida*, *Aspergillus* + *Fusarium*. «Active» IFD at the moment of transplant had 31% (9), PR – 37.9% (11), CR – 31% (9). Main sites of infection were lungs (82.8%), other sites had observed in combination with lung involvement (16.7%). Antifungal prophylaxis and therapy was dependent on aetiology and the response to antifungal therapy before transplantation, voriconazole had been used more often (87%). 12-weeks FFS after Allo-HSCT in patients with prior IFD was 82.8%. Cumulative incidence of IFD event was 17.2% (5): relapse/progression was observed in three patients and a new IFD due to *Paecilomyces* and *Candida krusei* was diagnosed in two patients. Active underlying disease (absence remission or relapse) on day 100 was the only risk factor for IFD event: relapse/progression/new episode after Allo-HSCT (1% vs 38.5%, p=0.005). There was no difference in 1-year OS in patients who had IFD before Allo-HSCT and in those who did not have it (62.1% vs 70.6%, p=0.330).

Conclusion. History of prior IFD is not contraindication for Allo-HSCT with standard protocol. IFD before transplantation did not impair the outcome of Allo-HSCT with effective methods of diagnosis and prophylaxis being used.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ХРОНИЧЕСКОГО ТОНЗИЛЛИТА

Каншаов Н.З.

Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова, Нальчик, Россия

MICROBIOLOGICAL FEATURES OF CHRONIC TONSILLITIS

Canshow N.H.

Kabardino-Balkarian State University named after H.M. Berbekov, Nalchik, Russia

Проблема лечения хронического тонзиллита (ХТ) остается актуальной в современной медицине, что определяется широкой распространенностью данного заболевания, а также вероятностью развития серьезных осложнений.

Цель исследования – изучить особенности микрофлоры небных миндалин у пациентов с ХТ.

Материалы и методы. В работе использовали 92 штамма: *Staphylococcus aureus* – 43, *Streptococcus salivarius* – 23, *Streptococcus pyogenes* – 13, *Streptococcus pneumoniae* – 13. Выделение бактерий из исследуемого материала и их идентификацию производили общепринятыми методами бактериологического исследования. Антилизосимную (АЛА), антикомплементарную (АКА) и антиинтерфероновую (АИА) активности бактерий изучали по методам Бухарина О.В. Активность каталазы штаммов бактерий выявляли йодометрическим методом. Для определения супероксиддисмутазной активности (СОД) штаммов использовали метод оценки образования адренохрома при автоокислении адреналина. Результаты исследований обрабатывали общепринятыми статистическими методами.

Результаты и обсуждение. При ХТ в 49% случаев высевали *S. aureus*, в 35% и 16% – смешанную микрофлору – *S. pyogenes* с *S. salivarius* и *S. aureus* с *S. pyogenes* соответственно. Множественной антибиотикорезистентностью обладали 46% (49 штамма) возбудителей. АЛА обладало 67% (53 бактериальных культуры) из 92 изученных штаммов. Наибольшее число штаммов с антилизосимной активностью наблюдали среди культур, относящихся к *S. aureus* – 83% (39 штамма). Наибольшее число штаммов с АИА также обнаружили среди культур, относящихся к *S. aureus* – 73% (33 штамма). АКА отмечали у 34% изученных штаммов *S. aureus*. Как и при исследовании АЛА, при изучении АКА большинство штаммов обладали средними показателями активности (25 ед/мл). Каталазную активность установили у всех штаммов, наиболее высокая активность фермента была у штаммов стафилококков (4,0-5,1 ед/20млн), штаммы стрептококков обладали достоверно более низкой каталазной активностью (2,2-2,5 ед/20млн), (p<0,05). СОД активности бактерий не обнаружили.

Заключение. Среди возбудителей ХТ наиболее часто встречается грамположительная кокковая биота с выраженным персистентным потенциалом в сочетании с антибиотикорезистентностью.

The problem of the treatment of chronic tonsillitis (CT) remains relevant in modern medicine that is determined by the prevalence of this disease, as well as the likelihood of serious complications.

The aim of the study was to explore the features of the microbiota of tonsils of patients with CT.

Materials and methods. 92 strains were used: *Staphylococcus aureus* - 43, *Streptococcus salivarius* - 23, *Streptococcus pyogenes* - 13, *Streptococcus pneumoniae* - 13. The selection of bacteria from the biological material and their identification was performed by standart methods of bacteriological research. The antilysozyme (ALA), anticomplementary (AKA) and of ant-INF (AIA) bacteria activity was studied according to the methods of Bukharin O. V. Catalase activity of bacteria strains were detected by iodometric method. To determine superoxide dismutase activity (SOD) method for the assessment of adrenochrome was used. The results of the research were treated with standart statistical methods.

Results and discussion. In 49% of cases of patients with CT *S. aureus* was detected, in 35% and 16% mixed microbiota - *S. pyogenes* with *S. salivarius* and *S. aureus* with *S. pyogenes*, was identified respectively. 46% (49 strains) were multiple antibiotic resistances. ALA had 67% (53 bacterial cultures) of the 92 studied strains. The number of strains with the antilysozyme activity was observed among *S. aureus* cultures - 83% (39 strains). The largest number of strains with AIA was also found among cultures related to *S. aureus* - 73% (33 strains). AKA

was observed in 34% of the studied strains of *S. aureus*. As in studies of ALA in the study of AKA the most of the strains had average activity (25 u/ml). Catalase activity was determined in all strains; the highest enzyme activity was in the strains of *Staphylococcus* (4.0 to 5.1 m u/20mn). The strains of *Streptococcus* had significantly lower catalase activity (2,2-2,5 u/20mn), ($p < 0.05$). SOD activity of bacteria was found.

Conclusion. Among the causative agents of CT gram-positive coccal biota with severe persistent potential in combination with antibiotic resistance is most common.

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ БИОПЛЕНКИ В РАЗВИТИИ КАТЕТЕР-АССОЦИИРОВАННЫХ ИНФЕКЦИЙ

Капустина В.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

BACTERIAL BIOFILMS IN THE DEVELOPMENT OF CATHETER-ASSOCIATED INFECTIONS

Kapustina V. V.

St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

По статистике постановка мочевого катетера в 40% случаев приводит к развитию катетер-ассоциированных инфекций мочевыводящих путей. На сегодняшний день ни использование различных материалов для изготовления катетеров, ни пропитывание этих материалов антимикробными агентами не решают проблему развития биопленок на их поверхности.

Цель – установить период времени образования бактериальной биопленки на внутренней поверхности уретрального катетера.

Материалы и методы. Исследовали 2 группы двух «ходовых» катетеров Фолея, изготовленных из нейтрального латекса-каучука, покрытого силиконовой смазкой. Первая группа – катетеры, поставленные пациентам по медицинским показаниям на срок от 1 до 30 суток; вторая группа – катетеры, инкубированные *in vitro* в присутствии грамположительных (*Staphylococcus aureus*) и грамотрицательных (*Escherichia coli*) микроорганизмов. Скорость и уровень образования биопленок изучали с помощью сканирующей электронной микроскопии с использованием микроскопа JSM-35C (Япония) при ускоряющем напряжении 15кВ.

Результаты. В первой группе катетеров бактериальные биопленки выявляли уже через 1 сутки после постановки катетера. Во второй группе микробиологические возбудители на внутренней поверхности катетеров обнаружили уже через 1 час после инкубирования, а через 24 часа наблюдали полноценные биопленки всех исследованных микроорганизмов.

Выводы. Катетеры из нейтрального латекса-каучука, покрытые силиконовой смазкой, способствуют адгезии микроорганизмов с последующим развитием бактериальной биопленки, что может стать причиной развития бактериурии или инфекционного поражения мочевыводящей системы при длительном использовании катетера.

A large number (about 40%) of hospital-acquired urinary tract infections are associated with urinary catheterization. Advanced materials of catheters or impregnating of these materials with antimicrobial agents do not solve the problem of the development of microbial biofilms.

Our aim was to set the period of time of bacterial biofilms formation on the interior surface of the urinary catheter.

Materials and methods. We examined the Foley catheter made of latex-neutral rubber coated with silicone grease. There were two groups of experiments. In the first group we analyzed catheters *in situ* from 1 to 30 days. The second group - catheters incubated *in vitro* with gram positive (*Staphylococcus aureus*) and gram negative (*Escherichia coli*) microorganisms. The rate and level of biofilm formation was studied by scanning electron microscopy with a microscope JSM-35C (Japan) at an accelerating voltage of 15kV.

Results. In the first group of experiments biofilms formation along the catheter surface were detected within 1 day after the urinary catheterization. The experiments *in vitro* demonstrate microbe microcolonies after 1 hour and complete microbe biofilms after 24 hours of incubation both the interior and exterior catheter surfaces.

Conclusions. Urinary catheterization of neutral latex-rubber coated catheters with silicone grease, can lead to the bacterial biofilm formation and consequently the bacteriuria development in long-term use of the catheter. Ultimately, prevention of these infections will require technical advances in catheter materials which prevent biofilm formation.

ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ МИКРОСПОРИЕЙ В УЗБЕКИСТАНЕ

Карабаева И.Т.

Центр дерматологии и венерологии МЗ Республики Узбекистан, Ташкент

INCIDENCE MICROSPORIA IN UZBEKISTAN

Karabaeva I.T.

Scientific Research Center of Dermatology and Venerology, MPH RU, Tashkent

Микроспория – наиболее распространенное заболевание из группы дерматомикозов. При анализе заболеваемости по Республике за последние 5 лет выявили рост интенсивного показателя от 1,3 (в 2009 г.) до 2,6 (в 2014 г.) на 100 тыс. населения. Одной из причин роста заболеваемости микозом является несвоевременность диагностики микроспории в результате изменения эпидемиологии и клиники инфекции в последние годы.

Цель – изучение эпидемиологических особенностей микроспории.

Материалы и методы. В период с 2011-2014 гг. обследовали 230 больных микроспорией в возрасте от 6 месяцев до 53 лет, получавших лечение в отделении микологии.

Результаты. Наибольшее количество больных микроспорией было госпитализировано осенью – 87 (37,4%), 67 (29%) – зимой, 46 (20,3%) – весной и 30 (13,3%) – летом. Подавляющая часть больных была в возрасте от 4 до 14 лет – 150 человек (65,3%). В последние годы микроспорию стали чаще регистрировать у взрослых – 25 (11%), которые раньше болели в исключительных случаях, и у детей менее одного года – 2 (0,9%), что ранее считали казуистикой. Микроспорию чаще отмечали среди лиц мужского пола – 140 (61%), чем среди женского – 90 (39%). Источники инфицирования выявили у 226 (98%) больных, у 4 (2%) – не установлены. До 126 (55%) больных микроспорией приходилось на членов семьи. В семье, как правило, заражение происходило от большого животного. Основным источником заражения были бродячие кошки – в 95% случаев, затем собаки – в 5% случаев. Анализируя клиническую картину микроспории, отмечали, что преобладали больные с микроспорией волосистой части головы – 101 (44%), с микроспорией гладкой кожи – 64 (27,3%), со смешанной формой – 64 (27,8%). В современных условиях клиническое течение микозов отличается значительным полиморфизмом, ростом атипичных форм, которые составили 35 (16%) больных. Таким образом, установили рост микроспории в последние годы, заболевание стали чаще наблюдать у взрослых и новорожденных. На заболеваемость микроспорией влияет сезонность. Основным источником заражения являются кошки. Возросла частота регистрации атипичных форм заболевания.

Заключение. Полученные данные необходимо учитывать при разработке лечебно-профилактических и санитарно-просветительских мероприятий, направленных на снижение заболеваемости микроспорией.

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ЛЕЧЕНИЮ МИКРОСПОРИИ

Карабаева И.Т.

Центр дерматологии и венерологии МЗ Республики Узбекистан, Ташкент

NEW APPROACHES TO TREATMENT MICROSPORIA

Karabaeva I.T.

Scientific Research Center of Dermatology and Venerology, MPH RU, Tashkent

В связи с длительным курсом лечения больных микроспорией, недостаточной его эффективностью, ростом числа побочных реакций от применения лекарств необходима разработка новых современных схем терапии. По данным из научной литературы известно, что микроспория чаще поражает детей с ослабленным иммунитетом, в связи с чем мы нашли целесообразным включить в комплексное лечение детей, больных микроспорией, иммуномодулирующий препарат Рибомунил (иммуномодулятор бактериального происхождения, обладающий противогрибковым действием и компенсирующий иммуносупрессивный эффект антибиотиков). Большим преимуществом рибомунилы является отсутствие необходимости выполне-

ния перед его назначением иммунограммы.

Цель исследования – разработка новой схемы лечения микро-спории.

Материалы и методы. В проведенной научно исследовательской работе участвовали 62 больных с микроспорией в возрасте от 4 до 14 лет, среди которых было 39 мальчиков и 23 девочки. В зависимости от использованного метода лечения, дети были подразделены на 2 группы. Первой группе (36 больных) проводили терапию системным антимикотиком. Второй группе (36 человек), дополнительно к традиционному лечению, назначали Рибомунил в дозировке 3 таблетки в день утром натощак 4 дня в неделю в течение всего периода терапии. Переносимость препарата была хорошей, побочных явлений не отмечали, в лабораторных анализах отклонений во время приема препарата не выявили.

Результаты. У всех пациентов было достигнуто клиническое и этиологическое выздоровление. В первой группе больных разрешение клинических проявлений произошло через 15-28 дней, элиминация грибов – в сроки от 25 до 32 дней. Во второй группе больных регресс клинических проявлений наблюдали через 13-25 дней, элиминацию грибов – в сроки от 18 до 28 суток.

Заключение. Включение иммуномодулятора (Рибомунил) в комплексное лечение больных микроспорией повышает терапевтический эффект и позволяет сократить продолжительность лечения.

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ СИНТЕТИЧЕСКИХ БАКТЕРИОЦИНОВ ЭНТЕРОКОККОВ

Карасева А.Б.¹, Духовлинов И.В.¹, Колобов А.А.², Суворов А.Н.^{1,3}

¹ Институт экспериментальной медицины, ² Государственный НИИ особо чистых биопрепаратов, ³ СПб государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SYNTHESIZED ENTEROCOCCAL BACTERIOCINES

Karaseva A.B.¹, Dukhovlinov I.V.¹, Kolobov A.A.², Suvorov A.N.^{1,3}

¹ Institute of experimental medicine, ² State research Institute of highly pure biopreparations, SPB State University, St. Petersburg, Russia

При исследовании генома пробиотического штамма *Enterococcus faecium* L3, обладающего выраженной антагонистической активностью к различным видам бактерий, обнаружили гены, кодирующие бактериоцины (EntA, EntB, EntXa и EntXb), роль каждого из которых в отдельности в проявлении антимикробных свойств остается невыясненной.

Цель работы – изучить антимикробные свойства синтетических бактериоцинов EntXa, EntXb и EntB, а также дополнительно синтезированных энтероцинов EntL50A и EntL50B.

Материалы и методы. Синтез пептидов проводили твёрдофазным способом на синтезаторе «Applied Biosystems 430A» по методу *in situ* с использованием N α -Boc-защищённых производных аминокислот с последующей очисткой методом полупрепаративной обращено-фазовой ВЭЖХ. Содержание основного вещества по оптической плотности (λ 230nm) составляло >95%. Для оценки антимикробной активности капли водного раствора энтероцинов в различных концентрациях наносили на газонный посев различных штаммов *Streptococcus agalactia*, *S. pyogenes*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

Результаты. Наиболее выраженную антимикробную активность энтероцинов наблюдали в отношении листерий. Было показано, что сам по себе энтероцин Xa не проявлял активности против листерий, но при комбинированном использовании EntXa (0,001 мг/мл) и EntXb (0,05 мг/мл) выявили увеличение зоны задержки роста индикаторных культур. Против энтерококков и стрептококков групп A и B активными оказались EntXb (>0,5 мг/мл), EntL50A (0,01 мг/мл) и EntL50B (0,05 мг/мл) а также EntB (0,01 мг/мл), который проявлял наиболее выраженную активность в отношении этих бактерий. Активность синтетических энтероцинов по отношению к *S. aureus* и *E. coli* не была установлена.

Вывод. Синтетические бактериоцины энтерококков обладают выраженным антибактериальным действием и имеют потенциал к использованию их в качестве основы для создания новых антимикробных препаратов.

Analysis of the genome sequence of probiotic strain *Enterococcus*

faecium L3, characterized by wide range of the antagonistic activity showed, that this strain contained several genes, encoding different bacteriocines (EntA, EntB, EntXa, EntXb). The responsibility of each of this bacteriocines for the antimicrobial activity is not fully understood.

The aim of this work was to study the antimicrobial activity of the synthetic bacteriocines EntXa, EntXb EntB and additionally synthesized enterocines EntL50A and EntL50B.

Materials and methods. The peptides were chemically synthesized *in situ* by the solid-phase method with an «Applied biosystems 430A» synthesizer, using Na-Boc protected amino acid derivatives. The crude synthetic peptides were purified on semi-preparative HPLC column. The concentrations of the substances were determined by measuring the optical density at 230 nm and was higher than 95%. The antimicrobial effect was measured by spot-on-lawn method against different strains of *Streptococcus agalactia*, *S. pyogenes*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

Results. *Listeria monocytogenes* was more susceptible bacteria to antimicrobial activity of enterocines than other bacteria used in this study. It was shown that the pure enterocin EntXa didn't demonstrate any inhibitory activity, while combined with enterocin EntXb (0,05mg/ml) it caused the enlargement of the inhibition zone if compared with pure enterocin EntB. Enterococci and streptococci group A and B were susceptible to EntXb (> 0,5 mg/ml), EntL50A (0,01 mg/ml), EntL50B (0,05 mg/ml) and enterocin EntB (0,01 mg/ml), which exhibited the highest activity against this group of bacteria. The antibacterial effect against *S. aureus* and *E. coli* was not determined.

Conclusion. Synthetic enterococcal bacteriocines displayed significant antibacterial effects and could be potentially used as the base component of new antimicrobial preparations.

ГРИБКОВАЯ ИНФЕКЦИЯ У ЖИТЕЛЕЙ РЕСПУБЛИКИ КАРЕЛИЯ (ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Карашурова Е.С., Парфенова А.А.

Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия

MYCOTIC INFECTION AMONG INHABITANTS OF KARELIA (A PILOT STUDY)

Karashurova E., Parfenova A.

Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russia

Проблема поражения людей грибковой инфекцией остается актуальной в настоящее время. Частота возникновения грибковых заболеваний связана с различными причинами. Прежде всего, возрастает количество больных с нарушениями в работе иммунной системы как врожденного, так и приобретенного характера. Основными факторами риска снижения активности иммунитета у пациентов с различными соматическими заболеваниями являются широкое использование антибактериальных препаратов, стероидных гормонов, цитостатических средств. Естественная резистентность слизистых оболочек может снижаться при ассоциациях грибов с условно-патогенными и патогенными микроорганизмами, что облегчает их внедрение в ткани и размножение.

В последние годы практикующие врачи не могут получить ожидаемых результатов при лечении грибковой инфекции, что, вероятно, связано с резистентностью грибов к наиболее часто используемым, антимикотикам.

Цель исследования – изучение распространенности грибковой инфекции у пациентов Республики Карелия.

Материалы и методы. Изучали статистические показатели и амбулаторные карты ГУЗ «Республиканский кожно-венерологический диспансер» (РКВД).

Результаты. На протяжении трех последних лет (2012-2013-2014) наблюдали стабильные и высокие показатели общего количества посещений с некоторой тенденцией к возрастанию числа пациентов (6217-6355-6453) с различными грибковыми заболеваниями. Количество случаев составило в рассматриваемые годы 4406 - 4563 - 4499 соответственно. Среди различных вариантов дерматомикозов преобладал микоз ногтей: 2193 - 2346 - 2304 случая, далее - микоз стоп – 248 - 236 - 257 случаев, а также паховый эпидермомиоз – 161 - 231 - 193 случая. Количество случаев неуточненных, а также других поверхностных микозов несколько растет – 29 - 30 - 35. Количество случаев разноцветного лишая – 823 - 806 и 858 в рассматриваемые годы.

Кандидоз – одна из самых разнообразных по клиническим проявлениям грибковых инфекций. Это связано с поражением кожи, слизистых оболочек или внутренних органов. Локализация поражения в коже и слизистых оболочках при кандидозе может быть также весьма разнообразной. Кандидозное поражение кожи и ногтей у обратившихся в РКВД пациентов преобладало над другими вариантами проявлений этой инфекции: 288 - 241 и 253 случая, тогда как кандидоз вульвы, вагины и других уrogenитальных локализаций составил по годам 228 - 166 и 88 случаев. Наиболее вероятно, эти данные не отражают истинную ситуацию, а связаны с обращением пациенток в частные гинекологические клиники.

В клинко-диагностической лаборатории РКВД лабораторную диагностику микозов проводят бактериоскопическим методом в сочетании с культуральным для получения культуры и идентификации гриба. Использование только бактериоскопического метода не дает возможности отличить дерматомицеты от нитевидных дрожжевых и плесневых грибов. С этой целью используют среду Сабуро-агар. В 2012 г. выполнено 252 посева, выявлено 9,2% дрожжеподобных грибов, 8,1% дерматомицетов и 5,7% оппортунистических грибов; в 2013 г. провели 231 посев, из них дрожжеподобную биоту обнаружили в 12% случаев, дерматомицеты – 6,35%, оппортунистические грибы – в 5,0%; в 2014 г. сделано 862 посева, дрожжеподобные грибы выявили в 13,0% случаев, дерматомицеты – в 6,0%, оппортунистические грибы – в 4,0%. Диагностическая тест-система «Dermatest» помогает быстро селективно выделять ответственные за поражение кожи, волос и ногтей патогенные грибы. Количество тестов, выполненных за три года, приблизительно одинаковое и составляет 59 - 51 и 52, при которых выявленная дрожжевая биота составила 22% - 19,6% - 11,5% соответственно, дерматомицеты – 6,7% - 7,8% - 9,6%, оппортунистические грибы – 5,7% - 5,8% и 5,7%.

Выводы. 1) Грибковые инфекции достаточно стабильно и часто выявляют у пациентов РКВД. 2) Если дерматомикозы регистрируют практически стабильно, то кандидозы уrogenитального тракта – реже (более чем в 2,5 раза). 3) Необходимо продолжить клинко-эпидемиологические исследования, изучить результативность лечения грибковой патологии, выявить случаи резистентности, частоту рецидивов, а также рассчитать индексы качества жизни у этой группы пациентов.

ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ДЕРМАТОМИКОЗАМИ ЗА 6 ЛЕТ В КРАСНОГВАРДЕЙСКОМ РАЙОНЕ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА

Касаткин Е.В., Лысогорская И.В.
КВД № 8, Санкт-Петербург, Россия

THE INCIDENCE OF DERMATOMYCOSES FOR 6 YEARS IN KRASNOGVARDEYSKY DISTRICT OF ST. PETERSBURG

Kasatkin E.V. Lysogorskaya I.V.
Skin-Venereal Dispensary № 8, St.Petersburg, Russia

С целью изучения социально-эпидемиологической картины дерматомикозов анализировали заболеваемость за период с 2009 по 2014 гг. по Красногвардейскому району Санкт-Петербурга.

Материалы и методы. Эпидемиологическая картина заболеваемости в последние годы не имеет четких тенденций: в 2009 г. интенсивный показатель составил 47,8, с 2009 по 2012 гг. наблюдали снижение заболеваемости, а последние 3 года этот показатель стабильный. В 2013-2014 гг. интенсивный показатель по микроспории составил 30,0. Заболеваемость стабилизировалась на этом уровне, что несколько выше общегородского уровня (по Санкт-Петербургу – 25,7 в 2013 г.). Таким образом, в исследуемом временном интервале пик заболеваемости пришелся на 2009 год.

Среди заболевших мужчин – 224 (31%), женщин – 499 (69%). Поражение гладкой кожи наблюдали в 666 случаях (92,1%), волосистой части головы – в 57 (7,9%). Среди больных микроспорией гладкой кожи – 28,1% мужчин и, 71,9% женщин; микроспорией волосистой части головы 59% мужчин и 41% женщин. У мужчин микроспорию гладкой кожи выявляли в 85% случаев, волосистой части головы – в 15%, у женщин – в 95,6% и 4,4% соответственно. При анализе возрастной характеристики установили, что среди заболевших микроспорией 57,5% составили дети до 14 лет, 37,3% – взрослые старше 18 лет, 5,2% – подростки от 15 до 17 лет. Чаще болеют девочки в

возрасте до 14 лет, женщины от 18 лет и старше. Среди детей до 14 лет – 41% дошкольников, из них 33% – не посещающие детские дошкольные учреждения.

В структуре заболеваемости трихофитией преобладало поражение гладкой кожи (62,5%). Мужчины болели чаще женщин (75% и 25% соответственно). Основной контингент больных – дети до 14 лет (50%) и подростки – 37,5%; взрослые – 12,5%.

Заключение. Полученные результаты служат подтверждением высокой интенсивности эпидемического процесса дерматомикоза, особенно – среди детского контингента, что доказывает актуальность противозидемической работы в очагах заболеваний, необходимость активного привлечения к обследованию контактных лиц и совершенствования методов лечения.

ЭТИОЛОГИЯ ТРИХОМИКОЗОВ В КРАСНОГВАРДЕЙСКОМ РАЙОНЕ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА В 2009-2014 ГОДАХ

Касаткин Е.В., Лысогорская И.В., Тимофеева Н.А.
КВД № 8, Санкт-Петербург, Россия

ETIOLOGY OF TRICHOMYCOSIS IN KRASNOGVARDEYSKY DISTRICT OF ST. PETERSBURG IN 2009-2014

Kasatkin E.V. Lysogorskaya I.V., Timofeeva N.A.
Skin-Venereal Dispensary № 8, St.Petersburg, Russia

Материалы и методы. За 2009-2014 гг. в Красногвардейском районе Санкт-Петербурга выявлено 723 трихомикоза: 715 случаев микроспории и 8 – трихофитии. За последние 6 лет заболеваемость микроспорией в Красногвардейском районе снижается, хотя последние 3 года этот показатель остаётся стабильным, но это выше данных по Санкт-Петербургу в целом. Колебания интенсивного показателя заболеваемости микроспорией в 2009-2014 гг. составили 44,7-30,0 (по Санкт-Петербургу – 28,5-25,7 (2013 г.)).

Для подтверждения заболевания использовали микроскопическое исследование материала из очагов поражения (чешуйки, обломки волос), а при положительных результатах микроскопии проводили культуральную диагностику для идентификации гриба-возбудителя.

Результаты. При проведении культуральной диагностики были получены 598 (83%) позитивных результатов, обнаружены дерматомицеты родов *Microsporum* и *Trichophyton*. В структуре дерматомицетов рода *Microsporum* лидировал *M. canis* – его рост отмечали в 580 случаях (98,3%), значительно реже – *M. gypseum* – 8 (1,3%), *M. ferrugineum* – 2 (0,3%). В 17% случаев роста возбудителя микроспории не наблюдали. В 7 случаях заболевания трихофитией при культуральном исследовании был выделен *T. tonsurans* (87,5%), в 1 случае – *T. mentagrophytes* var. *gypseum* (12,5%).

При культуральном исследовании наиболее часто выделяли *M. canis*, частота обнаружения которого в посевах составила за период с 2009 по 2014 гг., в среднем, 98,3%. Частота выявления патогена при микроспории волосистой части головы до 2012 г. снижалась, но с 2013 г. этот показатель растёт. Так, среди случаев заболевания микроспорией волосистой части головы в 2009 г. *M. canis* отмечали в 83% случаев, в 2010 г. – в 80%, в 2011 г. – в 67%, в 2012 г. – в 50%, в 2013 г. – в 78%, в 2014 г. – в 71,4%. Вторым по частоте этиологическим агентом при заболеваниях волосистой части головы был *M. gypseum*.

Заключение. По нашим наблюдениям, основным этиологическим агентом микроспории является *M. canis*. Это дает возможность рекомендовать в противозидемической работе уделять особое внимание выявлению больных животных, их изоляции и лечению.

ЛЕЧЕНИЕ БОЛЬНЫХ ЗООАНТРОПОНОЗНОЙ ТРИХОФИТИЕЙ ГЛАДКОЙ КОЖИ

Касымов О.И., Амакджанов М.Р.

Институт последипломного образования в сфере здравоохранения, Таджикистан

TREATMENT OF PATIENTS WITH ZOOANTHROPONOSAL TRICHOPHYTOSIS OF SMOOTH SKIN

Kasymov O.I., Amakdzhanov M.R.

Institute of Postgraduate Medical Education, Dushanbe, Tajikistan

Цель работы – оценить эффективность лечения больных зооантропонозной трихофитией гладкой кожи с использованием иммуностимулятора тимочицина.

Материал и методы. Пролечены 46 больных (мужчин – 29, женщин – 17) в возрасте от 18 до 36 лет. Продолжительность заболевания – от 2 недель до 5 месяцев. 32 (69,6%) пациентов отметили половой путь заражения. У 11 (23,9%) человек выявили изолированное поражение кожи лобковой области, у 35 (76,1%) – кожи лобка и окружающих областей. Количество очагов поражения – от 3 до 18. Поверхностно-пятнистую стадию трихофитии наблюдали у 16 (34,8%) больных, инфильтративную – у 18 (39,1%), инфильтративно-нагноительную – у 12 (26,1%).

Диагноз микоза устанавливали микроскопическим обнаружением спор *Trichophyton ectothrix* в волосах и мицелия грибов – в чешуйках кожи. Содержание CD₃⁺, CD₄⁺, CD₈⁺ и CD₂₀⁺-лимфоцитов определяли методом иммунофлуоресценции с использованием набора моноклональных и поликлональных антител, иммуноглобулинов А, М, G в сыворотке крови иммуноферментным методом.

Больные были разделены на 2 группы. Первой группе (23 пациента) назначали тербинафин (тербизил) внутрь после еды по 250 мг 1 раз в сутки в течение 5-6 недель, второй (23 больных) – тербизил и иммуностимулятор тимочин по 1,0 мл один раз в день в течение 10 дней. Наружно больным проводили противовоспалительно-антибактериально-противогрибковую терапию.

Результаты. Этиологическое излечение (трёхкратные отрицательные анализы на грибки с волос лобковой области) у всех 23 больных, принимавших иммуностимулирующую терапию, зафиксировали, в среднем, через 25,3±1,6 дней от начала лечения, при монотерапии тербизилом – через 5 недель (P < 0,01) только у 20 (87%).

Под влиянием комплексной терапии нормализовались 7 из 8 измененных до лечения показателей клеточного и гуморального отделов иммунитета, при монотерапии – только 3.

Заключение. Иммуностимулирующая терапия оказывает положительное влияние как на результаты и продолжительность лечения, так и на нарушенные показатели иммунитета.

Purpose – to estimate the treatment effectiveness for zooanthroponosol trichophytosis of smooth skin with immunostimulant Timocin.

Material and methods. 46 patients treated (men – 29, women – 17) aged 18 to 36. Duration of the disease: 2-22 weeks. 32 (69.6%) patients reported sexual transmission. 11 (23.9%) patients showed isolated skin lesions of pubic area, 35 (76.1%) patients showed lesions of pubic skin and the surrounding areas. Number of lesions: 3-18. Superficial and spotted form of trichophytosis observed in 16 (34.8%) patients, infiltrative form observed in 18 (39.1%), infiltrative and suppurative form observed in 12 (26.1%).

Diagnosis made by microscopic detection of *Trichophyton ectothrix* spores in hair and of mycelium in skin flakes. CD₃⁺, CD₄⁺, CD₈⁺ and CD₂₀⁺-lymphocytes measured by immunofluorescence using monoclonal and polyclonal set of antibodies. A, M, G immunoglobulins in serum measured by ELISA.

Patients were divided into 2 groups. First group (23 patients) took terbinafine (Terbizil) 250 mg 1 tablet daily for 5-6 weeks, and the second group (23 patients) – Terbizil + Timocin 1.0 ml daily for 10 days. Topically patients received anti-inflammatory, antibacterial and antifungal therapy.

Results. Etiological recovery (negative tests for fungi of pubic hair) in the second group recorded on average in 25.3 ± 1.6 days, in the first group – in 5 weeks (P < 0.01), only in 20 (87%) patients.

Complex therapy led to normalization of 7 out of 8 modified indicators of cellular and humoral immunities, monotherapy led to normalization of only 3.

Conclusion. Immunostimulating therapy has a positive impact on

both the results and duration of treatment and damaged immunity.

МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ-БИОДЕСТРУКТОРЫ В АНТРОПОГЕННЫХ МЕСТООБИТАНИЯХ АРХИПЕЛАГА ЗЕМЛИ ФРАНЦА ИОСИФА

Кирцидели И.Ю., Власов Д.Ю., Баранцевич Е.П., Крыленков В.А., Соколов В.Т.

Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия.

MICROFUNGI - BIODESTRUCTORS AT ANTHROPOGENIC HABITATS AT FRANZ JOSEPH LAND

Kirtsideli I.Yu., Vlasov D.Yu., Barantsevich E.P., Krulencov V.A., Sokolov V.T.

Komarov Botanical Institute RAS, St. Petersburg, Russia

Одними из самых высокоширотных участков суши северного полушария являются острова Архипелага Земля Франца-Иосифа (ЗФИ).

Цель нашей работы – изучение сообществ микроскопических грибов в почвах ЗФИ в естественных и антропогенно загрязненных сообществах полярных пустынь.

Материалами для наших исследований послужили образцы почв и грунтов, отобранные в летний период 2010, 2011 и 2014 гг. Образцы для микологического анализа отбирали и анализировались по общепринятым методикам, включающим молекулярный анализ видов.

Результаты и выводы. Средние показатели численности в антропогенно поврежденных почвах и грунтах были несколько выше, по сравнению с естественными плакорными (от греч. plax (plakos) – плоскость, равнина) местообитаниями, что, возможно, объясняется наличием в почвах пропагул микроскопических грибов, сохраняющих жизнеспособность, но не участвующих в метаболических процессах почвы. В антропогенно загрязненных почвах, по сравнению с контрольными, увеличивается доля мезофильных изолятов микроскопических грибов. Отметим, что комплексы микромицетов естественных ценозов характеризуются сравнительно небольшим числом доминантных видов, которые практически не изменяются в различных сообществах. Антропогенное влияние резко увеличивает общий видовой состав за счет привнесения инвазивных видов, к которым относят виды родов *Penicillium* и *Mucor*, *Alternaria alternate*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium cladosporioides*, *Ulocladium consortiale* и др. Наблюдали появление микромицетов, характерных для более южных регионов, например *Aspergillus niger*. По-видимому, большая часть изолятов (даже виды, привнесенные в естественные сообщества под влиянием антропогенной деятельности) адаптированы к северным регионам и/или изначально имели широкую температурную амплитуду роста, что помогло им успешно адаптироваться в данных условиях. Значительная часть инвазивных видов известны как виды условно-патогенные для человека и, в то же время, адаптированные к местным условиям.

One of the most high-latitude land areas of the Northern Hemisphere are islands in the archipelago of Franz Josef Land (FJL).

The aim of this work was the study microfungi in soils of FJL in natural and anthropogenic pollution of the polar desert communities.

Materials for our research were samples of soil and ground selected in the summer of 2010, 2011 and 2014. Samples for mycological analysis were collected and analyzed by conventional methods, including molecular analysis of species.

Results and conclusions. Averages in the number of damaged and anthropogenic soils were slightly higher compared with the natural watershed plakors habitats. This is possible due to the presence in the soil spores (propagules) of microfungi that may remain viable, but not involved in the metabolic processes of the soil. In anthropogenically contaminated soils, compared with the control, the share of mesophilic isolates microfungi were increase. Complexes microfungi of natural cenoses were characterized by a relatively small number of dominant species that remain virtually unchanged in different communities.

Anthropogenic influence dramatically increases the overall species composition by bringing invasive species, which include species of the genera *Penicillium* and *Mucor*, *Alternaria alternate*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium cladosporioides*, *Ulocladium consortiale* et al. We observed

the emergence of microfungi that were typical for more southerly regions, such as *Aspergillus niger*. Apparently, most of the isolates (even species that were introduced into natural communities under the influence of human activities) adapted to the northern regions, and/or initially had wide amplitude of temperature growth. This helped them to successfully adapt to these conditions. A significant part of invasive species known as opportunistic species for humans and, at the same time, adapted to local conditions.

БЫСТРОЕ ГЕНОТИПИРОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ К РИФАМПИЦИНУ И ИЗОНИАЗИДУ В МОКРОТЕ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НОВОЙ МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ПЦР-ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ

Кирьянов С.А., Макарова Н.Ю., Левина Т.А., Черноусова Л. Н., Смирнова Т.А., Ларионова Е.Е., Собкин А.Л., Виноградова Э.В., Нестеренко В.Г., Суслов А.П.

НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза, ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС», Россия

RAPID GENOTYPING MULTI-DRUG RESISTANCE/ SENSITIVITY IN SPUTUM TUBERCULOSIS SAMPLES BY MULTIPLEX PCR DETECTION

Kerianov S.A., Makarova N.Yu., Levina T.A., Chernousova L.N., Smirnova T.A., Larionova E.E., Sobkin A.L., Vinogradova E.V., Nesterenko V.G., Suslov A.P.

N. F. Gamaleya Research Institute of epidemiology and Microbiology Central research Institute of tuberculosis, LLC «NEARMEDIC PLUS», Russia

Быстрое определение генотипов устойчивости к рифампицину (RIF) и изониазиду (INH) в мокроте больных туберкулезом представляет собой одну из наиболее актуальных задач фтизиатрии. В России процент выявляемых больных с резистентностью к данным препаратам – один из самых высоких в мире (>37%), в связи с чем необходима разработка быстрой и эффективной методики определения чувствительности/устойчивости к RIF и INH, такой как ПЦР-анализ.

Цель исследования – оценка эффективности применения новой тест-системы для быстрой детекции устойчивости к RIF и INH микобактерий туберкулезного комплекса в мокроте больных методом мультиплексного ПЦР-анализа (МПЦР).

Материалы и методы. Исследования проводили с использованием с МПЦР, дающей возможность одновременно анализировать до 46 клинических образцов одновременно. Работу проводили на клинических образцах мокроты, выделенных от 71 больного с микобактериями, фенотипически устойчивыми к RIF и INH, и от 51 – с микобактериями, чувствительными к данным антибиотикам, по результатам культивирования в жидкой среде BACTEC. Выделение ДНК с помощью набора Sample Preparation System (Protege, США) осуществляли на автоматизированной системе пробоподготовки m2000sp Abbott (Abbott Molecular Inc., США). МПЦР-амплификации выполняли на приборе ДТ-96 (ДНК-технология, РФ). Результаты МПЦР-детекции мутаций к RIF и INH верифицировали секвенированием на капиллярном секвенаторе ABI Prism 3500 (Applied Biosystems, США).

Результаты. МПЦР были одновременно детектированы мутации устойчивости к RIF и INH в участке гена *groV*, генов *katG* и *inhA* соответственно, что являлось подтверждением статуса множественной лекарственной устойчивости в 97,2% (69/71) клинических образцов. Частота встречаемости мутаций в кодонах 531, 516, 526, 511 и 533 гена *groV* составила, соответственно, 76,3%, 10,1%, 8,7%, 4,5% и 1,4%. Комбинацию из 2-3 мутаций в гене *groV* обнаружили в 13 клинических образцах (18,8%). Мутации устойчивости к INH выявили в кодоне 315 гена *katG* и промоторной области гена *inhA* с частотой 89,7% и 10,3% соответственно. Секвенированием образцов подтвердили наличие детектированных мутаций методом МПЦР. Диагностическая чувствительность и специфичность тест-системы составили 97,2% и 100,0%.

Выводы. МПЦР помогает проводить быструю и эффективную детекцию множественной лекарственной устойчивости в образцах мокроты больных туберкулезом в условиях современной эпидемиологической ситуации.

ВЫЯВЛЕНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА В ИКСОДОВЫХ КЛЕЩАХ, СОБРАННЫХ В СЕЗОН 2014 Г. В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Князева О.Р., Погоцкая Ю.В., Тимофеев К.С., Молочкова Я. В., Красько А.Г.

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Минск, Беларусь

STUDY OF PATHOGENIC MICROORGANISMS IN TICKS COLLECTED IN BELARUS IN YEAR 2014

Kniazeva O.R., Pogockaya U.V., Timofeenko K.S., Molochkova Y. V., Krasko A.G.

Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Belarus

Клещи являются основными переносчиками инфекционных заболеваний человека и животных в природных условиях Беларуси и способны передавать больше патогенов, чем любые другие членистоногие. При исследовании клещей, отловленных в сезоны 2010-2013 гг., обнаружили, что в переносчиках, наряду с боррелиями и вирусом клещевого энцефалита, имели место также другие патогенные микроорганизмы, такие как риккетсии и анаплазмы. В связи с повсеместным распространением переносчиков по территории страны, их высокой численностью, а также ростом обращения населения по поводу присасываний клещей (ежегодно за помощью в учреждения здравоохранения республики с жалобами на присасывание иксодовых клещей при посещении лесов, парков, проведении сельскохозяйственных работ и пр. обращается от 30 до 50 тысяч человек), инфекции, передаваемые иксодовыми клещами, представляют серьезную угрозу общественному здоровью. Исследования по обнаружению смешанного инфицирования переносчиков патогенными для человека микроорганизмами немногочисленны и представляются актуальными.

Цель нашего исследования – изучить присутствие в клещах, отловленных в различных регионах Республики Беларусь, наиболее актуальных патогенов, таких как микроорганизмы комплекса *Borrelia burgdorferi sensu lato*, вирус клещевого энцефалита, а также *Rickettsia* spp.

Материалы и методы. С использованием метода ПЦР исследовано 470 клещей рода *Ixodes*, отловленных на территории Республики Беларусь в период с мая по октябрь 2014 г. Видовую принадлежность устанавливали согласно определителю членистоногих, вредящих здоровью человека.

Каждого клеща промывали в 70% спирте, затем – в стерильном фосфатно-солевом буфере, высушивали на стерильной фильтровальной бумаге для того, чтобы избежать загрязнения. Клещей гомогенизировали в 150 мкл фосфатно-солевого буфера. Выделение генетического материала (ДНК, РНК) проводили с помощью комплекта реагентов Рибо-преп (ФГУН ЦНИИЗ Роспотребнадзора, Россия) в соответствии с инструкциями изготовителя. к-ДНК получали с использованием набора Реверта-Л. Все клещи были проанализированы на наличие боррелий, вируса клещевого энцефалита, риккетсий методом ПЦР амплификации. В качестве ДНК мишеней были выбраны диагностически значимые участки геномов детектируемых возбудителей (ОТ-ПЦР для КЭ) и подобраны к ним праймеры. Для боррелий выбран участок гена флагеллина; для вируса клещевого энцефалита – 3'- не кодирующий участок генома вируса клещевого энцефалита; для риккетсий – фрагмент гена, кодирующего белок (17 кДа) внешней мембраны.

Результаты и обсуждение. Из 470 обследованных клещей в 31,7% случаев (149 пробах) определяли наличие ДНК *Borrelia burgdorferi sensu lato*, в 15,1% (71 пробе) случаев детектировали РНК вируса клещевого энцефалита, в 41,1% (193 пробах) – ДНК *Rickettsia* spp.

При исследовании на возможность смешанного инфицирования переносчиков несколькими патогенами одновременно обнаружили, что 17,9% (84 пробы) содержали одновременно два и более патогена. Сочетание боррелий с вирусом клещевого энцефалита наблюдали в 4% (19 пробах), боррелий и риккетсий – в 8,1% (38), риккетсий с вирусом клещевого энцефалита – в 2,3% (11), всех трех патогенов – в 3,4% (16).

При анализе распределения зараженности клещей боррелиями по областям установили, что очаги с наибольшей зараженностью

имели место на территориях Брестской и Минской областей (63,4% и 51,2% соответственно).

Наиболее активные природные очаги вируса клещевого энцефалита имели место на территориях Гродненской (33,8 % проб содержали РНК вируса клещевого энцефалита), Брестской (19,5%) и Минской областей (14,6%).

Риккетсии выявляли практически по всей территории республики. Высокое их содержание отмечали в Витебской (54,9%), Гомельской (45,1%), Гродненской (56,3%) и Минской (47,6%) областях.

Заключение. В клещах, отловленных в сезон активности в 2014 г., как и в предыдущие годы исследований, наиболее часто выявляли боррелии и риккетсии. Полученные результаты несколько отличаются от аналогичных данных сезона активности клещей 2013 г., в котором зараженность клещей боррелиями составила 29,7%, вирусом клещевого энцефалита – 19,8%, риккетсиями – 50,5%. Это позволяет сделать предварительные выводы о возрастании зараженности переносчиков боррелиями и относительном снижении их зараженности вирусом клещевого энцефалита и риккетсиями.

Ticks are the main vectors of infectious diseases of humans and animals in natural conditions of Belarus. They are capable of transmitting more pathogens than any other arthropods. During the study of ticks collected in seasons of years 2010-2013 was found that in ticks at the same time with *Borrelia* and tick-borne encephalitis virus, were present also other pathogens such as *Rickettsia* and *Anaplasma*. Due to the ubiquitous vectors across the country and due to their high abundance and growth rate, calls from people about tick bites and consequent tick infections impose a serious threat to public health (according to medical care in health institutions of the republic, number of complaints of tick bites occurred in the forests, parks, agricultural work etc. has increased from 30,000 to 50,000 people in a year). There has been only a few relevant studies on the detection of mixed infection vectors transmitting human-pathogenic microorganisms so far.

The aim of our research - to study the presence in ticks collected in different regions of the Republic of Belarus the most abundant pathogens such as bacteria complex *Borrelia burgdorferi sensu lato*, tick-borne encephalitis virus (TBE) and *Rickettsia* spp.

Materials and methods. 470 ticks of the genus *Ixodes* have been studied using PCR method, collected on the territory of the Republic of Belarus during the activity period from May to October 2014. Selection of species was made according to the determinant of arthropods harmful to human health.

Each tick was washed in 70% alcohol, then in sterile phosphate buffered saline, and then was dried on sterile filter paper in order to avoid contamination. The ticks were homogenized in 150 µl of phosphate-buffered saline. Isolation of genetic material (DNA, RNA) was performed using the "RiboPrep" reagents kits (Federal Budget Institution of Science "Central Research Institute of Epidemiology", Russia) in according with the instructions. cDNA synthesis was prepared by using Reverta-L kit (Federal Budget Institution of Science "Central Research Institute of Epidemiology", Russia). All ticks were analyzed for the presence of *Borrelia*, TBE, *Rickettsia* spp. by PCR amplification. The target DNA was selected from diagnostically significant areas of genomes of pathogens (RT-PCR for TBE) and matched primers for them. The flagellin gene was selected as site for detection of *Borrelia*; 3' non-coding region of the genome for the tick-borne encephalitis virus detection; and the gene fragment encoding protein (17 kD) in the outer membrane - for *Rickettsia*.

Results and discussion. Out of 470 surveyed ticks, in 31.7% of cases (149 samples) the presence of DNA of *Borrelia burgdorferi sensu lato* was determined, in 15.1% of cases (71 sample) RNA of TBE virus was detected. The DNA of *Rickettsia* spp. It was found in 41.1% of cases (193 samples).

Studies have been conducted opportunities of mixed infections in tick with few pathogens simultaneously. It was shown that 17.9% (84 samples) contained a combination of two or more pathogens. The combination of *Borrelia* and tick-borne encephalitis virus was detected in 4% (19 samples), *Borrelia* and *Rickettsia* - 8.1% (38), *Rickettsia* and tick-borne encephalitis - 2.3% (11), all three pathogens together - 3, 4% (16).

Analysis of the distribution of infected ticks with *Borrelia* by areas has found that the foci with the highest infection had been in Brest and Minsk regions (63.4% and 51.2%, respectively).

The most active natural foci of tick-borne encephalitis virus occurred in the Grodno (33.8% of the samples contained RNA of tick-borne encephalitis virus), Brest (19.5%) and Minsk regions (14.6%).

Rickettsia revealed almost the entire territory of the country. High their content was found in Vitebsk (54.9%), Gomel (45.1%), Grodno (56.3%)

and Minsk (47.6%) regions.

Conclusion. In the season of year 2014, as in previous years of investigations, the most frequently in ticks were detected *Borrelia* (31,7%) and *Rickettsia* (41,1 %). The obtained results are somewhat different from similar data taken from tick season in 2013. In this year *Borrelia*-infected ticks was 29.7%, virus encephalitis was 19.8%, and rickettsia 50.5%. This allows to draw preliminary conclusions about the increasing contamination of ticks transmitting *Borrelia* and the relative decrease of TBE virus and *Rickettsia*.

ВЛИЯНИЕ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА (ВПЧ) НА ТЕЧЕНИЕ ХЛАМИДИЙНОЙ И МИКОПЛАЗМЕННОЙ ИНФЕКЦИИ У МУЖЧИН

Ковалев Д.А., Шевченко С.Ю.

Южно-Уральский государственный медицинский университет МЗ РФ, Челябинск, Россия

INFLUENCE OF THE HUMAN PAPILLOMAVIRUS (HPV) ON THE COURSE OF CHLAMYDIA AND MYCOPLASMA INFECTIONS IN MEN

Kovalev D.A., Shevchenko S.Y.

South-Ural State Medical University of MN of RF, Chelyabinsk, Russia

Цель исследования – изучить влияние вируса папилломы человека (ВПЧ) на воспалительный процесс, вызванный хламидиями и урогенитальными микоплазмами, у мужчин.

Материалы и методы. На базе ЧОККВД обследовано 80 мужчин с марта 2013 по январь 2015 г. В исследование включены мужчины репродуктивного возраста (18-48 лет) с хламидийной, микоплазменной и папилломавирусной инфекциями. Проводили микроскопию отделяемого уретры с окраской по Граму. Поражение верхних отделов мочевого тракта диагностировали методами пальцевого массажа предстательной железы с микроскопией секрета, ультразвуковым исследованием предстательной железы и органов мошонки, уретроскопией. Качественное определение ВПЧ, *Chlamydia trachomatis* и *Mycoplasma genitalium* (соскобы из уретры) осуществляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР Real-time).

Результаты. Из 80 обследованных лиц у 58 (72,5%) обнаружили хламидии или генитальные микоплазмы. У 47 (81%) пациентов давность воспалительного процесса составляла более двух месяцев, из них у 40 (85,1%) – диагностировали поражение верхних отделов мочевого тракта (простатит и/или везикулит). 15 (25,9%) из 58 пациентов предъявляли жалобы на клинические проявления хламидийной или микоплазменной инфекции, в частности, выделения из уретры и неприятные ощущения при мочеиспускании. Из них 9 человек (60%) имели свежий (давностью менее 2 месяцев) воспалительный процесс в уретре. Среди мужчин с хроническим воспалительным процессом, только 6 (12,8%) отмечали наличие вышеперечисленных симптомов. 11 пациентов предъявляли жалобы на снижение полового влечения, снижение яркости оргазма, ускорение эякуляции. У 32 больных (55,1%) хламидийная и микоплазменная ИППП протекали асимптомно.

При однократном исследовании папилломавирусную инфекцию (ПВИ) выявили у 44 (55%) пациентов. При повторном обследовании (через полгода) наличие ВПЧ подтверждено у 38 (86,4%) человек (пациенты с транзитным течением исключены из основного исследования). В 22 случаях ПВИ была ассоциирована с хламидийной или микоплазменной инфекциями. Остроконечные кондиломы аногенитальной локализации отмечали у 11 мужчин (28,9%). В остальных случаях течение ПВИ было асимптомным. Примечательно, что среди 22 пациентов, у которых ПВИ находилась в ассоциации с другими инфекциями, у 20 (90,1%) наблюдали осложненное течение воспалительного процесса. Среди пациентов с бактериально-вирусной инфекцией не было случаев транзитного течения ПВИ.

Выводы. Наличие папилломавирусной инфекции не оказывает значимого влияния на течение воспалительного процесса нижних отделов мочевого тракта (уретрит) у мужчин при хламидийной или микоплазменной ИППП. Наличие папилломавирусной инфекции, в сочетании с хламидийной или микоплазменной ИППП, увеличивает риск развития осложнений со стороны придаточных половых желез. При наличии бактериально-вирусной инфекции вероятность персистенции ВПЧ повышается.

The purpose of research was to study the influence of human papil-

lomavirus (HPV) on the inflammatory process, caused by *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma genitalium* in male.

Methods. 80 men were examined at Chelyabinsk Regional Sexually transmitted infection Clinic research base from March 2013 till January 2015. The study included men of reproductive age (18-48 years) with *C. trachomatis*, *M. genitalium* and HPV infection. Microscopy was performed on a Gram-stained urethral discharge. The inflammation of the upper genital tract was diagnosed by method of finger prostate massage with microscopy of prostate secret, ultrasonography of prostate and scrotal organs and cystoscopy. Qualitative detection of HPV, *C. trachomatis* and *M. genitalium* (urethral) was performed by polymerase chain reaction (real-time PCR).

Results. Of the 80 persons surveyed in 58 (72.5%) *C. trachomatis* or *M. genitalium* were found. In 47 (81%) patients inflammation existed more for than two preceding months, of whom 40 (85.1%) - was diagnosed with the inflammation of the upper genital tract (prostatitis and / or vesicles). 15 (25.9%) of 58 patients complained of clinical manifestations of chlamydia or mycoplasma infection, in particular, urethral discharge and discomfort when urinating. Of these nine people (60%) had inflammation of the urethra (for less than 2 preceding months). Among men with chronic inflammatory process, only 6 (12.8%) reported the presence of the above symptoms. 11 patients complained of decreased libido, decreased brightness of orgasm, ejaculation acceleration. In 32 patients (55.1%) the course of chlamydia and mycoplasma infection was without any manifestations.

The papilloma viral infection (PVI) detected in 44 (55%) patients in a single study. During re-examination (six months later) in 38 (86.4%) patients presence of human papilloma virus (HPV) was confirmed (patients with transient course is excluded from the main study). The PVI was associated with chlamydia or mycoplasma infections in 22 cases. The anogenital warts was observed in 11 (28.9%) men. In other cases the course of the PVI was asymptomatic. It is noteworthy that among 22 patients with PVI associated with other infections 20 (90.1%) patients had complications during the inflammatory process. Among patients with bacterial and viral infection were not cases of transient currents PVI.

Conclusions. The papilloma viral infection doesn't influence on the course of inflammatory process of the lower urinary tract (urethritis) in men with chlamydia or mycoplasma infections. The papilloma viral infection with chlamydia or mycoplasma infections increases the risk of complications from accessory genital glands. The bacterial and viral infection increases risk of acquiring persistente of HPV infection.

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЦЕЛЛЮЛОЗНЫХ МАТЕРИАЛОВ, СОДЕРЖАЩИХ НАНОЧАСТИЦЫ СЕРЕБРА

Козлова Е.С., Никифорова Т.Е.

Ивановский государственный химико-технологический университет, Иваново, Россия

TOXICOLOGICAL ASSESSMENT OF CELLULOSE MATERIALS CONTAINING SILVER NANOPARTICLES

Kozlova E.S., Nikiforova T.E.

Ivanovo State University of Chemistry and Technology, Ivanovo, Russia

Цель работы – получение в водных растворах наночастиц серебра путем восстановления нитрата серебра глюкозой и внедрение полученных частиц на целлюлозный материал для придания ему бактерицидных свойств. Указанный материал может найти применение при изготовлении изделий санитарно-гигиенического назначения: простыней, салфеток, ваты, бинтов и так далее.

Материалы и методы. В работе изучали процесс восстановления серебра в водных растворах с помощью «зеленого» реагента – глюкозы, в отсутствие какого-либо дополнительного стабилизатора. Применение глюкозы обусловлено ее экологической безопасностью и биологической совместимостью. Определяли оптимальные условия образования наночастиц серебра: концентрацию нитрата серебра и глюкозы, значение pH, температуру и время обработки.

В ходе эксперимента использовали следующие методы нанесения наночастиц серебра на целлюлозный материал: 1) метод, основанный на синтезе наночастиц серебра с их одновременным закреплением в порах и на поверхности целлюлозного материала; 2) метод нанесения раствора наночастиц серебра на целлюлозный материал с использованием ультразвука.

Полученные материалы с внедренными наночастицами серебра исследовали с помощью следующих методик: 1) определение острой токсичности водной вытяжки, содержащей наночастицы серебра, по смертности дафний; 2) определение токсичности водной вытяжки, содержащей наночастицы серебра, по изменению оптической плотности культуры водоросли хлорелла. Измерение оптической плотности суспензии водоросли проводили в многоцветном культиваторе КВМ-05.

По **результатам** двух методик сделали окончательную оценку острой токсичности водных вытяжек. Выявили, что целлюлозный материал с наночастицами серебра, нанесенными с помощью ультразвука, является самым безопасным и может быть использован при изготовлении изделий санитарно-гигиенического назначения.

The **purpose** of this work is the preparation of silver nanoparticles in aqueous solutions by glucose reduction of silver nitrate and the subsequent introduction of the obtained particles on cellulose material to give bactericidal properties. This material may find application in the manufacture of goods for sanitary and health purposes: sheets, wipes, cotton wool, bandages, etc.

Materials and methods. The process of reduction of silver in aqueous solutions using glucose – a “green” reagent in the absence of any additional stabilizer is studied in this work. The use of glucose is caused by its environmental safety and biological compatibility. We identified optimal conditions for the formation of silver nanoparticles: the concentration of silver nitrate and glucose, pH value, temperature and treatment time.

In the experiment, we used the following deposition methods of silver nanoparticles on cellulose material: 1) method based on the synthesis of silver nanoparticles with simultaneous fixing in the pores and on the surface of cellulose material; 2) method of deposition of the silver nanoparticles solution on cellulose material using ultrasound.

The obtained materials with embedded silver nanoparticles were investigated using the following methods: 1) determination of acute toxicity of aqueous extract containing silver nanoparticles according to the Daphnia mortality; 2) determination of toxicity of the aqueous extract contains silver nanoparticles according to the change of optical density of the algae *Chlorella* culture. The optical density measurement of the algae suspension was carried out in the cultivator-05.

We made the final evaluation of the acute toxicity of the aqueous extracts according to the **results** of the two methods performed. It is revealed that the cellulose material with silver nanoparticles embedded by using ultrasound is the safest and can be used in the manufacture of goods for sanitary and health purposes.

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ ПАЦИЕНТОВ МНОГОПРОФИЛЬНОГО СТАЦИОНАРА

Козлова Н.С.¹, Баранцевич Н.Е.², Мокрова Е.В.¹, Плехотнюк Л.В.³, Баранцевич Е.П.²

¹Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова; ²Федеральный центр сердца крови и эндокринологии имени В. А. Алмазова, ³Ленинградская областная клиническая больница, Санкт-Петербург, Россия

ANTIBIOTICORESISTANCE OF ENTEROBACTERIA ISOLATED FROM PATIENTS IN THE MULTIDISCIPLINARY HOSPITAL

Kozlova N. S.¹, Barantsevich N. E.², Mokrova E. V.¹, Plahotnjuk L. V.³, Barantsevich E. P.²

¹North-Western State Medical University named after I. I. Machnikov; ²Federal North-West Medical Research Centre, ³Regional clinical hospital, St. Petersburg, Russia

Цель исследования – определение устойчивости к антибиотикам энтеробактерий, выделенных из респираторного тракта пациентов многопрофильного стационара.

Материалы и методы. Методом серийных разведений в агаре Мюллер-Хинтон определяли чувствительность 111 штаммов энтеробактерий, выделенных из респираторного тракта больных многопрофильного стационара, к 15 антибактериальным препаратам: ампициллину (Ар), цефотаксиму (Стх), цефепиму (Срм), цефиксиму (Сфх), цефтриаксону (Ста), комбинациям амоксициллин / клавуланат (Ам/кл), пиперациллин / тазобактам (Пи/тз), цефоперазон / сульбак-

там (Cfp/sb), ципрофлоксацину (Cip), моксифлоксацину (Mox), имипенему (Im), меропенему (Mer), эртапенему (Ert), гентамицину (Gm), амикацину (Ak).

Результаты. 94,6% изученных культур оказались устойчивы хотя бы к одному антибактериальному препарату, при этом преобладали штаммы, устойчивые к Ap (94,6%), Cip и Mox (по 55,0%), Am/cl (51,4%) и всем цефалоспорином (по 49,5). Меньшая часть энтеробактерий была устойчива к Gm (33,3%), комбинациям Pi/tz и Cfp/sb (по 25,2%). Наибольшую активность в отношении энтеробактерий проявляли Ak (резистентность – 12,6%), и карбапенемы (5,4% устойчивы к Ert, 3,6% – к Mer и 0% – к Im). Все устойчивые к карбапенемам культуры – *Klebsiella pneumoniae*. 42,3% составили полирезистентные штаммы, которые чаще выделялись из бронхоальвеолярного лаважа (50%), чем из мокроты (39,5%), удельный вес таких культур различался у разных родов энтеробактерий и был выше всего у клебсиелл (67,4%) и ниже всего у – *Escherichia coli* (15,6%).

Выводы. Среди энтеробактерий, выделенных из респираторного тракта в многопрофильном стационаре, преобладали антибиотикорезистентные культуры с высоким удельным весом полирезистентных штаммов, которые чаще выявляли среди клебсиелл и энтеробактера. Наибольшую активность в отношении энтеробактерий проявляли карбапенемы, особенно – имипенем, к которому не обнаруживали устойчивых культур, и амикацин.

The aim of the study was the determination of sensitivity to antibiotics of enterobacteriae isolated from respiratory tract in hospitalized patients.

Materials and methods: Sensitivity of 111 strains of enterobacteriae isolated from respiratory tract of hospitalized patients to 15 antibiotics was determined by serial dilution method in Muller-Hinton medium. Used antibiotics were: ampicillin (Ap), cefotaxime (Ctx), cefepime (Cpm), cefixime (Cfx), ceftriaxone (Cta), combinations of amoxicillin / clavulanate (Am/cl), piperacillin / tazobactam (Pi/tz), cefoperazone / sulbactam (Cfp/sb), ciprofloxacin (Cip), moxifloxacin (Mox), imipenem (Im), meropenem (Mer), ertapenem (Ert), gentamicin (Gm), amikacin (Ak).

Results: 94.6% of studied cultures were resistant to at least one antibiotic. Most frequent were strains resistant to Ap (94.6%), Cip and Mox (55.0% both), Am/cl (51.4%) and all cephalosporins (49.5 all). Cultures resistant to Gm (33.3%), combinations of Pi/tz and Cfp/sb (25.2% both) were twice less frequent. Ak (12.6% resistant strains) and carbapenems (5.4% resistant to Ert, 3.6% – to Mer и 0% – to Im) were the most active against studied strains of enterobacteriae. All carbapenem resistant strains belonged to *Klebsiella pneumoniae* species. High proportion (42.3%) of multidrug resistant cultures was detected. Such strains were more frequently isolated from bronchoalveolar lavage fluid (50%) than from sputum (39.5%). Proportion of multiresistant strains varied between different genera of enterobacteria. Their highest level was found among *Klebsiella spp.* (67.4%) and lowest one – among *Escherichia coli* strains (15.6%).

Conclusion: Antibiotic resistant strains dominated among enterobacteriae isolated from respiratory tract of the patients in the hospital. High proportion of multidrug resistant cultures was found. Multi resistant strains dominated among *Klebsiella spp.* and *Enterobacter spp.* Most effective against enterobacteria were carbapenems. The most active antibiotic was imipenem. No resistant cultures to this drug were registered.

МИКРОБИОТА РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА ПАЦИЕНТОВ МНОГОПРОФИЛЬНОГО СТАЦИОНАРА

Козлова Н.С.¹, Баранцевич Н.Е.², Мокрова Е.В.¹, Плахотнюк Л.В.³, Баранцевич Е.П.²

¹ Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова; ²Федеральный центр сердца крови и эндокринологии имени В. А. Алмазова, ³Ленинградская областная клиническая больница, Санкт-Петербург, Россия

MICROBIOTA OF RESPIRATORY TRACT OF THE PATIENTS IN A MULTIDISCIPLINARY HOSPITAL

Kozlova N. S.¹, Barantsevich N. E.², Mokrova E. V.¹, Plahotnjuk L. V.³, Barantsevich E. P.²

¹North-Western State Medical University named after I. I. Machnikov; ²Federal North-West Medical Research Centre, ³Regional clinical hospital, St. Petersburg, Russia

Цель исследования – изучение микробиоты бронхоальвеолярно-го лаважа пациентов многопрофильного стационара.

Материалы и методы. Микроорганизмы выделяли из бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) 108 госпитализированных в 2011-12 гг. больных с инфекциями респираторного тракта бактериологическим методом.

Результаты. Из 155 проб БАЛ было выделено 192 штамма микроорганизмов, из них 17,2% *Candida spp.*, 42,2% грамположительных бактерий и 40,6% грамотрицательных. Из бактерий чаще всего выявляли штаммы стрептококков (27,6%) и неферментирующих грамотрицательных бактерий (НГОб) (25,0%), в два раза реже – культуры стафилококков (14,6%) и энтеробактерий (13,6%). Обнаружили всего 4 штамма нейссерий (2,1%). Среди НГОб преобладали *Pseudomonas aeruginosa* (41,7%), *Acinetobacter baumannii* (29,2%) и *Stenotrophomonas maltophilia* (25,0%), среди энтеробактерий – *Klebsiella pneumoniae* (42,3%) и *Escherichia coli* (34,7%), среди стафилококков – *Staphylococcus epidermidis* (53,6%) и *S. aureus* (42,9%). В подавляющем большинстве случаев (81,3%) микробы наблюдали в монокультурах, представленных чаще стрептококками (25,8%) и НГОб (25,2%), в два раза реже – энтеробактериями (13,5%), стафилококками (11,9%) и *Candida spp.* (9,6%). Ассоциации микроорганизмов отмечали в 18,7% проб, чаще двух (14,2%), реже трех (3,9%) и четырех видов микроорганизмов (0,7%). В ассоциациях чаще выявляли *Candida spp.* (72,5%), стафилококки и стрептококки (по 44,9% соответственно).

Выводы. Возбудителями инфекционного процесса у пациентов с инфекциями респираторного тракта в данном стационаре были как грамположительные, так и грамотрицательные бактерии. Чаще микроорганизмы выделяли из БАЛ в монокультуре, в ассоциациях преобладали *Candida spp.*

The aim of the study was the determination of microbiota in the bronchoalveolar lavage fluid in hospitalized patients.

Materials and methods. Microorganisms were isolated with bacteriologic methods from bronchoalveolar lavage fluid (BAL) of 108 patients with respiratory tract infections, hospitalized in 2011-2012

Result. 192 strains of microorganisms were isolated from 155 BAL samples: 17.2% *Candida spp.*, 42.2% Gram-positive bacteria and 40.6% Gram-negative bacteria. Streptococci (27.6%) and non-fermenting Gram-negative bacteria (NGNB) were isolated 2 times more frequently than staphylococci (14.6%) and enterobacteriae (13.6%). Only four strains of *Neisseria spp.* (2.1%) were present. *Pseudomonas aeruginosa* (41.7%), *Acinetobacter baumannii* (29.2%) and *Stenotrophomonas maltophilia* (25.0%) dominated among NGNB; *Klebsiella pneumoniae* (42.3%), *Escherichia coli* (34.7%) among enterobacteriae, *Staphylococcus epidermidis* (53.6%) and *Staphylococcus aureus* (42.9%) among staphylococci. Microorganisms were mostly detected in monocultures, and in most cases were presented by streptococci (25.8%) and NGNB (25.2%), twice less frequently by enterobacteriae (13.5%), staphylococci (11.9%) and *Candida spp.* (9.6%). Microbial associations were found in 18.7% of samples, comprised by two (14.2%), three (3.9%) and four (0.7%) species of microorganisms. *Candida spp.* (72.5%), staphylococci and streptococci (44.9% both) were the most often detected genera in the microbial associations.

Conclusions. Infectious agents in patients with the respiratory tract infections in the hospital were mainly Gram-positive and Gram-negative bacteria. Microorganisms were usually isolated from BAL in monoculture, *Candida spp.* dominated in microbial associations.

СЛУЧАЙ УСПЕШНОГО ЛЕЧЕНИЯ АКТИНОМИКОЗА КОЛЕННОГО СУСТАВА

Козлова О.П., Мирзabalaeва А.К., Клишко Н.Н.

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

SUCCESSFUL TREATMENT OF ACTINOMYCOSIS KNEE

Kozlova O.P., Mirzabalaeva A.K., Klimko N.N.

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

Публикации о лечении актиномикотического артрита единичны. Представляем случай успешного лечения актиномикоза коленного сустава.

Объекты и методы. Пациентка А., 8 лет, заболела в марте 2014 г., когда появились боль при движении и отечность мягких тканей в области левого коленного сустава. Отметим, что анамнестические

данные указывают на наличие травмы области левой стопы (коло-тая рана ржавым гвоздем) в мае 2013 г. С диагнозом «инфекционно-аллергический артрит» амбулаторно получала нестероидные противовоспалительные препараты с временным эффектом. В августе 2014 г. боль и ограничение движения в левом коленном суставе усилились. Через 6 месяцев от начала заболевания пациентка была госпитализирована на ревматологическое отделение Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета с диагнозом «монартрит левого коленного сустава». При обследовании клинико-лабораторные показатели (клинический анализ крови, общий белок, АЛТ, АсТ, билирубин, сахар крови, ревматологические пробы) были в пределах нормы. На МРТ левого коленного сустава определяли неоднородное содержимое в проекции препателлярной сумки, распространяющееся на переднюю-латеральную поверхность, с четкими контурами, размером 50*8 мм.

09.10.14 г. (через 6,5 мес. от начала заболевания) было проведено хирургическое лечение, удалено образование размерами 8*6*2 см, желтовато-бурого цвета, с участками некроза. При гистологическом исследовании: признаки гранулематозного воспаления, образованные грануляционной тканью разной зрелости, инфильтрированной лейкоцитами, нейтрофилами, эозинофилами, эпителиальными клетками. В участках гнойного расплавления ткани – актиномикотические друзы.

При обследовании в микологической клинике клинико-лабораторные показатели оставались в пределах нормы. Выполнено повторное гистологическое исследование, актиномикотическая этиология заболевания подтверждена. Установлен диагноз «актиномикоз левого коленного сустава, состояние после оперативного лечения».

Провели лечение бензилпенициллина натриевой солью в дозе 8 млн. ЕД в сутки в течение 10 дней (2 млн ЕД внутривенно 4 раза в сутки). Отмечали положительную динамику: уменьшение боли и увеличение объема движения в левом коленном суставе. Затем был назначен амоксициллин в дозе 750 мг в сутки перорально. Через 3,5 месяца общее самочувствие удовлетворительное: отсутствует болевой синдром, объем движения левого коленного сустава сохранен в полном объеме, показатели клинико-диагностических исследований в пределах нормы. На КТ области левого коленного сустава костно-травматических изменений в зоне сканирования не выявили. Длительность антибактериальной терапии составила 4,5 месяцев.

Заключение. Представлен случай успешного хирургического и антибактериального лечения актиномикоза коленного сустава.

Actinomycosis of a knee is rare, with few published cases. We report here a case of successful treatment of knee actinomycosis.

A 8-year-old girl was admitted at March 2014 with painless swelling of the left knee after daily activities. One year before trauma of left foot (stab wound with a rusty nail) occurred. The patient was diagnosed as "infectious-allergic arthritis". She was treated with non-steroid anti-inflammatory drugs. At August 2014 movements of the affected joint was limited. Lab tests (hemoglobin and total white counts, total protein, ALT, AST, blood sugar, rheumatologic tests) were normal. CT scan revealed inhomogeneous contents in the projection prepatella bags, extending to the anterolateral surface with clear contours, size 50*8 mm. Intraoperative inspection showed edema and fibrosis of the tissue surrounding patella left knee, education dimensions of 8*6*2 cm, yellowish-brown color, with areas of necrosis. Histology showed inflammatory infiltrate comprised of neutrophils, lymphocytes and plenty of foamy macrophages around a sulphur granules.

She was treated for two weeks with IV penicillin 24 000 000 units/d with rapid clinical response and disappearance of all symptoms. Then she used oral amoxicillin 750 mg/d for 4 months. She has remained asymptomatic since this time. She has remained asymptomatic since this time. General state of health is satisfactory: no pain, full motion of the knee joint. CT imaging of left knee are normal.

ФАКТОРЫ РИСКА ВИСЦЕРАЛЬНОГО АКТИНОМИКОЗА

Козлова О.П., Мирзabalaeва А.К., Клишко Н.Н.

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

RISK FACTORS OF VISCERAL ACTINOMYCOSIS

Kozlova O.P, Mirzabalaeva A.K., Klimko N.N.

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

Цель – изучить факторы риска висцерального актиномикоза.

Материалы и методы. Под наблюдением в НИИ микологии в период 2005-2014 гг. находились 162 больных с висцеральным актиномикозом в возрасте от 8 до 81 года (медиана – 42 (36,5-52)), женщин – 71% (n=115), мужчин – 29% (n=47). Во всех случаях диагноз был верифицирован на основании гистологического исследования биопсийного или операционного материала (определение тканевой формы возбудителя) и/или бактериологического исследования патологического материала (отделяемое гнойных полостей и свищевых ходов), с посевом в анаэробных условиях. Контрольную группу составили 93 пациента с различными клиническими вариантами течения воспалительных заболеваний неактиномикотической этиологии.

Статистическую обработку выполняли с использованием методов непараметрического анализа пакета прикладных программ StatSoft Statistica (версия 10.0). Различия средних величин считали достоверным при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Пациенты с актиномикозом органов брюшной полости и малого таза составили 50% (n=82), с шейно-лицевым актиномикозом – 41% (n=65), с торакальным актиномикозом – 9% (n=15). Достоверным фактором риска актиномикоза органов брюшной полости является аппендэктомия с осложненным течением послеоперационного периода (периаппендикулярный инфильтрат, заживление послеоперационных швов вторичным натяжением) (OR= 5.04 [1.07-23.72], $p < 0,05$); актиномикоза органов малого таза – длительное (медиана – 8±6 лет) нахождение контрацептива в полости матки (OR= 7.7 [2.5-23.8], $p < 0,05$), шейно-лицевого актиномикоза – травма шейно-лицевой области (OR=5.9 [2.2 -15.8], $p < 0,05$), торакального актиномикоза – предшествующая аспирация содержимого желудочно-кишечного тракта (OR=10,3 [1-103], $p < 0,05$).

Выводы. Актиномикоз органов брюшной полости и малого таза составляет 50%, шейно-лицевой – 41%, торакальный – 9%. Необходимо выявление пациентов с высоким риском развития висцерального актиномикоза. Для верификации диагноза актиномикоза требуется гистологическое подтверждение или бактериологическое исследование отделяемого гнойных полостей или пораженных органов с посевом материала в анаэробных условиях.

АЛЛЕРГИЧЕСКИЙ БРОНХОЛЕГОЧНЫЙ АСПЕРГИЛЛЕЗ У БОЛЬНЫХ МУКОВИСЦИДОЗОМ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

Козлова Я.И., Борзова Ю.В., Малеева Е.Г., Аак О.В., Богомолова Т.С., Игнатьева С.М., Клишко Н.Н.

Северо-Западный Государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова, НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина. Санкт-Петербург, Россия

ALLERGIC BRONCHOPULMONARY ASPERGILLOSIS IN PATIENTS WITH MYCOVICIDOSIS IN ST. PETERSBURG

Kozlova Y.I., Borzova U.V., Maleeva E.G., Aak O.V., Bogomolova T.S., Ignatieva S.M., Klimko N.N.

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

Аллергический бронхолегочный аспергиллез (АБЛА) значительно ухудшает функцию дыхания больных муковисцидозом. По данным международных исследований, частота АБЛА среди пациентов с муковисцидозом составляет от 2% до 15%, отечественные публикации по этой теме единичны.

Цель – изучить распространенность микогенной сенсибилизации

ции и частоту развития АБЛА у больных муковисцидозом в Санкт-Петербурге.

Материалы и методы. Обследовали 27 больных муковисцидозом в возрасте от 1 до 37 лет (медиана – 11 лет), мужчин – 14, женщин – 13. Всем пациентам проводили кожное тестирование с шестью грибковыми аллергенами, определение уровня общего IgE (иммуноферментный анализ) и специфических IgE к грибковым аллергенам в сыворотке крови, определение уровня IgG к *Aspergillus fumigatus*, а также микроскопию и посев мокроты. Специфические IgE к грибковым, бытовым и эпидермальным аллергенам выявляли с помощью множественного аллоргосорбентного теста с применением хемилюминесцентного анализа (MAST-CLA) компании «Хитачи Кемикл Диагностикс, Инк.» (США). При подозрении на АБЛА выполняли компьютерную томографию органов грудной клетки. Критерием микогенной сенсibilизации считали обнаружение в сыворотке крови уровня специфического IgE к грибковому аллергену, соответствующего классу 1 и выше. Диагноз АБЛА устанавливали на основании критериев Stevens et al, 2003 г.

Результаты. Микогенную сенсibilизацию по положительным результатам кожных прик-тестов и/или выявлению специфических IgE к грибковым аллергенам в сыворотке крови установили у 16 больных (59%), наиболее часто – к *Aspergillus* spp. (37%). Частота сенсibilизации к другим микромицетам составила: к *Alternaria* spp. – 26%, к *Candida* spp. – 22%, к *Penicillium* spp. – 15%, к *Rhizopus* spp. – 7%, к *Cladosporium* spp. – 4%. IgG к *A. fumigatus* отмечали у 5 (19%) больных. При посеве мокроты рост *Aspergillus* spp. наблюдали у 7 (26%) пациентов. Аллергический бронхолегочный аспергиллез диагностировали у 2 человек (7%).

Выводы. Частота микогенной сенсibilизации у больных муковисцидозом составила 59%, к *Aspergillus* spp. – 37%. Развитие АБЛА отмечали у 7% пациентов. Больным муковисцидозом показано проведение скринингового обследования для выявления и лечения аллергического бронхолегочного аспергиллеза.

Allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA) significantly impairs respiratory function in patients with cystic fibrosis (CF). According to international studies, the incidence of ABPA in CF patients ranges from 2 to 15%. National publications on this subject are rare.

Objectives. To study the prevalence of fungal sensitization and estimate frequency of ABPA in patients with CF in Saint-Petersburg.

Materials and methods. The study included 27 patients with CF. The median age of patients was 11 years (range 1-37), males – 14, females – 13. All patients underwent skin tests with six fungal allergens, determination of total IgE level (by enzyme immunoassay) and specific IgE to fungal allergens in serum, IgG to *Aspergillus fumigatus*. Microscopic examination of sputum and sputum culture were done. Specific IgE to fungal, domestic and epidermal allergens were determined using multiple allergen simultaneous test-chemiluminescent assays (MAST-CLA; Chemical Diagnostics, Inc., USA). In case of ABPA suspicion computed tomography of the chest was performed. Detection of specific serum IgE to fungal allergen (class ≥ 1) was considered as criterion of fungal sensitization. Diagnostic criteria of ABPA 2003 [Stevens et al] were used.

Results. Sensitization to fungi by positive skin prick tests and/or by specific serum IgE level to fungal allergens was identified in 16 patients (59%). The highest frequency of fungal sensitization was connected with *Aspergillus* spp. (37%). Occurrence of sensitization to other micromycetes: *Alternaria* spp. – 26%, *Candida* spp. – 22%, *Penicillium* spp. – 15%, and *Rhizopus* spp. – 7%; *Cladosporium* spp. – 4%. IgG to *Aspergillus fumigatus* was detected in 5 patients (19%). Sputum culture identified *Aspergillus* spp. in 7 patients (26%). ABPA was diagnosed in 2 patients (7%).

Conclusion. The frequency of fungal sensitization in cystic fibrosis patients was 59%, sensitization to *Aspergillus* spp. – 37%. ABPA was diagnosed in 7% patients. All patients with cystic fibrosis need allergy screening for timely detection and adequate treatment of ABPA.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ С МИКОГЕННОЙ СЕНСIBILИЗАЦИЕЙ

Козлова Я.И., Фролова Е.В., Аак О.В., Учеваткина А.Е., Филиппова Л.В., Соболев А.В., Клишко Н.Н.

Северо-Западный Государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова; НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, Санкт-Петербург, Россия

IMMUNOLOGICAL FEATURES OF PATIENTS WITH ASTHMA AND MYCOGENIC SENSITIZATION

Kozlova Y.I.¹, Frolova E.V.², Aak O.V.², Uchevatkina A.E.², Filippova L.V.², Sobolev A.V.¹, Klimko N.N.¹

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

Бронхиальная астма (БА) – серьезная проблема современного здравоохранения. По мнению многих авторов, микогенная сенсibilизация ассоциирована с тяжелым течением этого заболевания. Многие аспекты патогенеза БА с микогенной сенсibilизацией в настоящее время изучены недостаточно.

Цель – изучить иммунологические параметры у больных бронхиальной астмой с микогенной сенсibilизацией.

Материалы и методы. Обследовали 32 больных БА. В основную группу включили 16 больных БА с микогенной сенсibilизацией (8 мужчин и 8 женщин) в возрасте от 18 до 71 года (медиана – 49 лет). Группу сравнения составили 16 больных БА без микогенной сенсibilизации (9 мужчин и 7 женщин) от 21 до 69 лет (медиана – 34 года). Контрольная группа – 12 практически здоровых людей (медиана – 29 лет).

В аллергологическое обследование включили кожное тестирование с шестью грибковыми аллергенами, определение уровня общего IgE (ИФА) и специфических IgE (MAST-панель к грибковым, бытовым, эпидермальным аллергенам (Hitachi Chemicals Diagnostic)). Критерием микогенной сенсibilизации считали положительный кожный прик-тест и/или выявление в сыворотке крови уровня специфического IgE к грибковому аллергену, соответствующего классу 1 и выше.

Продукцию интерлейкинов (IL-2, IL-4, IL-10, IL-8, TNF- α , GM-CSF, IL-6) и интерферона- γ (IFN- γ) определяли в супернатантах клеточной крови после 24 часовой стимуляции фитогемагглютинином с использованием набора Bio-Plex Pro Human Cytokine 8-Plex Panel (Bio Rad). Полученные результаты статистически обрабатывали с помощью программной системы STATISTICA for Windows (версия 6.0).

Результаты. В основной группе наибольшую частоту микогенной сенсibilизации отмечали к *Aspergillus* spp. (64%). Частота сенсibilизации к другим микромицетам составила: *Penicillium* spp. – 52%, *Alternaria* spp. – 36%, *Mucor* spp. – 30%, *Cladosporium* spp. – 27%, *Rhizopus* spp. – 12%. Уровень общего IgE в этой группе варьировал от 3 до 2100 МЕ/мл (медиана – 591). В группе сравнения уровень общего IgE был достоверно ниже – от 1 до 639 ед/мл (медиана – 181), $p < 0,05$.

У всех больных БА была повышена продукция GM-CSF по сравнению с показателями контрольной группы. Высокую положительную корреляционную связь выявили между уровнем IL-4 и показателями общего IgE, GM-CSF и IFN- γ ($r=0,59$, $r=0,90$, $r=0,79$ $p < 0,05$ соответственно). Однако у больных БА с микогенной сенсibilизацией установлена достоверно более высокая продукция IFN- γ (медиана – 1275 (634+2163) vs 474 (321+527) пг/мл; $p=0,001$) и IL-2 (медиана – 1416 (926+1893) vs 573 (235+970) пг/мл; $p=0,001$) по сравнению с показателями группы сравнения. Уровни продукции IL-10, TNF- α , IL-6 и IL-8 у больных обеих групп не отличалась от контрольных значений.

Выводы. Иммунологическими особенностями больных бронхиальной астмой с микогенной сенсibilизацией является увеличение уровня общего IgE, высокая частота сенсibilизации к *Aspergillus* spp. и повышение концентраций IL-2 и IFN- γ , что служит показателем смешанного типа воспалительного процесса, обусловленного микогенной сенсibilизацией.

Asthma is a serious problem of modern health care. According to many authors, a fungal allergy is associated with severe course of asthma. Many aspects of pathogenesis of asthma with a fungal allergy are studied insufficiently now.

The aim. To study immunological parameters in patients with asthma

and fungal allergy.

Materials and methods. We observed 32 patients with asthma. Main group included 16 patients with asthma and fungal allergy (8 men and 8 women), aged 18 to 71 years (median - 49 years). The comparing group consisted of the 16 patients with asthma without fungal allergy (9 men and 7 women), aged 21 to 69 (median - 34 years). The control group included 12 healthy people (median - 29 years).

Allergological examination included skin prick test with six fungal allergens, determination of the total IgE level (by ELISA) and specific fungal, epidermal, household allergens in MAST-panel (Hitachi Chemicals Diagnostic). The positive skin prick-test and/or detection in serum of blood of level of the specific IgE to fungal allergen corresponding to class 1 or higher were considered as the criteria of fungal sensitization.

Production of the interleukines (IL-2, IL-4, IL-10, IL-8, TNF- α , GM-CSF, IL-6) and interferon- γ (IFN- γ) were determined in peripheral blood cell supernatants after 24 hours stimulation with phytohemagglutinin using Bio-Plex Pro Human Cytokine 8-Plex Panel (Bio Rad). The obtained results were statistically processed using the STATISTICA for Windows (version 6.0).

Results. In the main group the highest frequency of the fungal sensitization was to *Aspergillus* spp. (64%). The frequency of sensitization to other micromycetes was the following *Penicillium* spp. - 52%, *Alternaria* spp. - 36%, *Mucor* spp. - 30%, *Cladosporium* spp. - 27%, *Rhizopus* spp. - 12%. The total IgE level was 3 to 2100 U/ml (a median - 591) in this group. In the comparing group the total IgE level was significantly lower - 1 to 693 U/ml (a median - 181), $p < 0,05$.

Production of GM-CSF was increased in all patients with asthma to compare with the control group. Strong positive correlations were found between the IL-4 levels and total IgE, GM-CSF and IFN- γ ($r=0,59$, $r=0,90$, $r=0,79$ $p < 0,05$, respectively). However, significantly higher production of IFN- γ (median 1275 (634+2163) vs 474 (321+527) pg/ml; $p=0,001$) and IL-2 (median 1416 (926+1893) vs 573 (235+970) pg/ml; $p=0,001$) was detected, in patients with asthma and fungal allergy to compare with the comparison group. The levels of IL-10, TNF- α , IL-6 and IL-8 did not differ in patients of both groups from the control values.

Conclusion. Immunologic features of patients with BA and fungal sensitization were increased levels of total IgE, high frequency of sensitization to *Aspergillus* spp. and increasing concentrations of IL-2 and IFN- γ , indicating the combined type of the inflammation due to fungal sensitization.

ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ ГРИБОВ РОДА MALASSEZIA У БОЛЬНЫХ СЕБОРЕЙНЫМ ДЕРМАТИТОМ

Корнишева В.Г., Шурпицкая О.А., Макарова А.И.

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова; НИИ медицинской микологии им. П. Н. Кашкина, Санкт-Петербург, Россия

THE DETECTION OF FUNGI OF MALASSEZIA GENUS IN PATIENTS WITH SEBORRHEIC DERMATITIS

Kornisheva V.G., Schurpizkaya O.A., Makarova A.I.

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

Себорейный дерматит характеризуется большой распространенностью. Это рецидивирующее заболевание, одной из локализаций которого является кожа волосистой части головы. Особенности кожи головы (обильный волосяной покров, большое количество сальных желез) в сочетании с экзогенными факторами (тепло, влажность, неадекватно выбранные гигиенические средства по уходу за волосами) создают благоприятные условия для размножения микроорганизмов.

Перхоть – легкая клиническая форма себорейного дерматита. Факторы, предрасполагающие к развитию себорейного дерматита: повышенная выработка кожного сала под влиянием андрогенов, изменения в колонизации и метаболизме кожной микробиоты (*Malassezia* spp.) и повышенная индивидуальная чувствительность. Грибы разлагают липиды кожного сала с образованием свободных жирных кислот и триглицеридов. При потреблении последних *M. globosa* выделяет ненасыщенные жирные кислоты, которые вызывают раздражение кожи, что приводит к воспалению и шелушению. В настоящее время большое внимание уделяют роли липофильных

грибов рода *Malassezia* в развитии десквамативных поражений кожи. Больные обычно жалуются на выраженное шелушение, зуд, избыточную сальность кожи волосистой части головы, выпадение волос, что вызывает дискомфорт.

Цель работы – обследование больных с себорейным дерматитом.

Материалы и методы. Микологическое исследование состояло из двух этапов – микроскопии кожных чешуек волосистой части головы и их культуральное исследование. Кожные чешуйки волосистой части головы проверяли на наличие элементов микромицетов (споры, мицелий) при помощи световой и флуоресцентной микроскопии, а также засевали биоматериал на плотную среду Сабуро и на дерматомицетный селективный агар Таплина (MERCK, Германия). Учет результатов культурального исследования: просмотр посевов производили на 14-ый день и далее – каждые 3 дня до 1-го месяца. Морфологию полученных культур изучали с помощью световой микроскопии.

Результаты. В 2012-2014 гг. обследовано 259 больных в возрасте от 16 до 71 года (средний возраст – 38 лет), из них 161 (62,2%) женщина и 98 (37,8%) мужчин. Больные с жалобами на высыпания и зуд обращались в два раза чаще в возрасте 25-40 лет. Сезонный пик обращаемости пациентов (40%) отмечали в осенние месяцы. Пациенты предъявляли жалобы на зуд, наличие перхоти и высыпаний на волосистой части головы.

При микроскопии кожных чешуек от 116 больных (44,8%) обнаружили тканевую форму *Malassezia* sp. в виде скопления дрожжевых клеток в форме гроздьев винограда. Мицелий не наблюдали ни у одного пациента. Гендерные различия не оказывали влияния на выявляемость грибов. При посеве патологического материала от 31 больного рост *Candida* spp. получили у 4 (5,7%) рост *Rhodotorula* spp. – у 2 (2,9%); у 25 – рост грибов отсутствовал.

Выводы. 1) В возрасте 25-40 лет себорейный дерматит выявлялся в два раза чаще, чем в других возрастных группах. 2) Женщины с жалобами на зуд или поражение волосистой части головы обращались чаще (62,2%), чем мужчины (37,8%). 3) Наибольшую обращаемость больных себорейным дерматитом наблюдали в осенние месяцы года (40%). 4) При себорейном дерматите *Malassezia* spp. идентифицированы в 44,8% случаев. 5) Обнаружение *Malassezia* spp. не зависело от половых различий.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕСТОВ ДЛЯ НЕИНВАЗИВНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Корноухова Л. А.

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им.акад.И.П.Павлова, ЗАО «Северо-Западный центр доказательной медицины», Санкт-Петербург, Россия

EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF NONINVASIVE DIAGNOSTIC TESTS

Kornoukhova L.A.

Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, North-West Center of Evidence based Medicine, St. Petersburg, Russia

Цель – оценить эффективность комплексного теста для неинвазивной диагностики слизистой оболочки желудка «ГастроПанель»: определение антител (IgG) к *Helicobacter pylori*, пепсиногена I, пепсиногена II, гастрин-17 базального/стимулированного уровней.

Материалы и методы. Проанализировали случайным образом сгенерированную выборку из 1179 исследований, выполненных за период с 2008-2015 гг. реагентами Biohit Оуј (Финляндия). Средний возраст пациентов – 49 лет, минимальный – 2 года, максимальный – 94 года. Наиболее часто обследовали группы 41-50 лет (26%) и 51-60 лет (31%).

Результаты. Только у 122 (10%) пациентов все показатели: IgG к *H. pylori*, пепсиногена I (Pg I), пепсиногена II (Pg II), гастрин-17 (G-17) c/без стимуляции находились в рамках референтных диапазонов. IgG к *H. pylori* в пределах нормальных значений выявили у 398 (34%) пациентов. Низкий уровень Pg I, являющийся показателем фиброгастроскопии, отмечали у 92 (7%) больных, в то время как высокую кислотность установили у 150 (13%) человек. У 169 (14%) обследованных лиц нарушение продукции Pg I сопровождалось наличием высокого уровня антител к *H. pylori*. Среди 376 пациентов (32%) с полной оценкой продукции G-17 признаки атрофии слизистой антрального отдела желудка наблюдали у 208 (18%) пациен-

тов, чему в 126 (11%) случаях сопутствовал высокий уровень IgG к *H. pylori*. Превышение верхней границы нормы Рg II (показателя воспадения слизистой оболочки желудка любой этиологии) выявили у 329 (28%) больных.

Выводы. Результаты определения Пепсиногена I при скрининговых исследованиях помогают выявить лиц с высоким риском развития рака желудка и пациентов, относящихся к группе риска по язве 12-перстной кишки. Для диагностики инфекции *H. pylori* необходимо одновременное применение нескольких методов – определение антигена и антител к *H. pylori*, т.к. гуморальный ответ формируется через 18-60 дней с момента заражения и титр антител сохраняется длительное время, даже после успешной эрадикации, что не дает возможности использовать серологические тесты для назначения лечения и при контроле эффективности.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА МИКОБАКТЕРИАЛЬНЫХ СИНТЕТИЧЕСКИХ АНТИГЕНОВ ДЛЯ СЕРОДИАГНОСТИКИ ЛЕПРЫ

Королёва-Ушакова А.Г.¹, Баранова Е.В.¹, Соловьев П.В.¹, Бикетов С.Ф.¹, Кононов Л.О.²

¹ Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, п. Оболensk, Московская обл.; ² Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва, Россия

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE DIAGNOSTIC POTENTIAL OF SYNTHETIC MYCOBACTERIAL ANTIGENS FOR SERODIAGNOSIS OF LEPROSY

Koroleva-Ushakova A.G.¹, Baranova E.V.¹, Soloviev P.V.¹, Biketov S.F.¹, Kononov L.O.²

¹State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow region; ²Institute of Organic Chemistry of Zelinsky N.D., Moscow, Russia

Согласно данным ВОЗ, в 70 странах мира насчитывают 1,8 млн. людей, больных лепрой, ежегодно регистрируют 500-800 тыс. новых случаев заболевания. Большинство пациентов проживает в странах Юго-Восточной Азии, Африки, Латинской Америки, Западной части Тихого океана. В России регистрируют лишь единичные случаи заболевания, однако эндемические очаги сохранились в ряде стран ближнего зарубежья. В связи с возросшим уровнем миграции населения из данных регионов в Россию, актуализировалась потребность в применении скрининговых тестов на наличие маркеров лепрозной инфекции. Чувствительным маркером микобактериальных инфекций может служить наличие в крови антител к некоторым общим для возбудителей туберкулеза и лепры белковым и углеводным антигенам.

Цель – сравнительная характеристика диагностического потенциала некоторых микобактериальных синтетических антигенов для серодиагностики лепры.

Материалы и методы. В работе показан диагностический потенциал различных по составу антигенов на основе конъюгатов синтетических углеводных эпитопов из микобактериальных антигенов фенольного гликолипида (ФГЛ-1) и липоарабиноманна (ЛАМ) с бычьим сывороточным альбумином (BSA) для серодиагностики лепры.

Исследования проводили методом иммуноферментного анализа. Синтетические антигены были получены различными методами химической конъюгации белков с углеводами. Диагностическую чувствительность полученных антигенов оценивали с использованием сывороток больных лепрой и здоровых доноров, специфичность – с применением сывороток больных туберкулёзом.

Результаты. Диагностическая чувствительность синтезированных антигенов зависит от состава и количества введенных в белки углеводных эпитопов. В частности, наибольшую чувствительность проявили антигены, в составе которых присутствует эпитоп из ФГЛ-1, при содержании наименьшего количества остатков сахара на одну молекулу белка (чувствительность составила от 63 до 87%). Неспецифические реакции отмечали для конъюгатов, содержащих ЛАМ, особенно – с сыворотками вакцинированных БЦЖ доноров (от 15 до 20%).

Вывод. Полученными результатами показана перспективность использования для серодиагностики лепры синтетических антиге-

нов микобактерий, имеющих в своём составе дисахарид из антигена ФГЛ-1 *M. leprae* и гексасахарид из антигена ЛАМ *M. tuberculosis* в виде конъюгатов с бычьим сывороточным альбумином с различным сочетанием количества сахаров и белка. Наибольшую перспективность показали конъюгаты с малым количеством остатков сахара на одну молекулу белка, такие как конъюгат BSA с дисахаридным производным ФГЛ-1 и гексасахаридным фрагментом ЛАМ, а также конъюгат BSA с олигосахаридом ЛАМ.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У РАНЕННЫХ И ПОСТРАДАВШИХ ЛИЦ С ПОЛИТРАВМАМИ

Коскин В.С., Светяш Д.А., Рудь А.А., Петров А.Н., Борисенко Н.В., Суборова Т.Н.

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

MICROBIOLOGICAL MONITORING OF INFECTIOUS COMPLICATIONS IN CASES WITH SEVERE POLITRAUMA

Koskin V.S., Svetyash D.A., Rud A.A., Petrov A.N., Borisenko N.V., Suborova T.N.

Military Medical Academy named after S. M. Kirov, St. Petersburg, Russia

Цель – на основании результатов микробиологического мониторинга оценить динамику лидирующих возбудителей инфекционных осложнений (ИО) и обосновать необходимость многократных повторных бактериологических исследований для оптимизации схем антибактериальной терапии у пострадавших в травмоцентре 1-го уровня.

Материалы и методы. В период с 2008 по 2014 гг. обследовали 608 пациентов, выполнили 6824 исследования образцов клинического материала. Бактериологические исследования проводили в НИЦ ВМА имени С.М. Кирова классическими методами.

Результаты. Частота ИО у пострадавших с сочетанными травмами была связана со степенью тяжести травмы и достигала 95%. В структуре осложнений доля раневых инфекций составила 34,4%, висцеральных ИО – 86,1%, генерализованных – 52,8%. В третьем периоде травматической болезни причиной летального исхода в 65-85% случаев был тяжелый сепсис. С помощью мониторинга оценили спектр основных возбудителей в зависимости от локализации очага и определили изменения удельного веса лидирующих возбудителей ИО. Установлено, что возбудители инфекционных осложнений были выявлены уже на третьи-пятые сутки пребывания пациента в стационаре. Частота выделения возбудителей из нескольких очагов втрое превышала этот показатель для изолированных очагов и нарастала в динамике наблюдения, что доказало необходимость проведения комплексного бактериологического исследования, направленного на раннее обнаружение возбудителей в разных анатомических областях. Спектр микроорганизмов, выделенных от пациента, в динамике изменялся. Отмечали процессы элиминации, повторного выделения и суперинфекции – появления возбудителя, отсутствовавшего в предыдущих посевах. Результаты использовали для оптимизации схем антибактериальной терапии у пострадавших в травмоцентре 1-го уровня.

Выводы. В травмоцентре 1-го уровня микробиологический мониторинг необходимо проводить как в виде постоянных мероприятий, так и путем многократных повторных бактериологических исследований образцов клинического материала раненых и пострадавших с ИО для своевременной коррекции схем антибактериальной терапии.

Objective is to analyze dynamic of leading pathogens of infectious complications according to the results of microbiological monitoring and approve the necessity of repeatable bacteriological tests for optimizing antibacterial therapy in cases with severe trauma at Level 1 trauma center.

Materials and methods. During period from 2008 up to 2014 there were explored 608 cases and 6284 bacteriological tests were realized. The bacteriological tests of clinical material were provided by standard methods at Research Science Center of the Military Medical Academy named after S.M. Kirov, St. Petersburg.

Results. Frequency of infectious complications at cases with severe

polytrauma was seized with severity of trauma and attained 95%. Rate of wound infection was 34,4%, visceral infection – 86,1%, generalized infection – 52,8%. At 65-85% cases severe sepsis was the reason of mortality at third period of traumatic disease. We estimated the spectrum of main pathogens in different localizations with microbiological monitoring and analyzed the variation of pathogens rate. Pathogens of infectious complications were found out at 3-5 day of staying patient at hospital. Frequency of finding out pathogens from several localizations was three times higher, than from isolated location and it was increasing, that proved necessity of complex bacteriological tests for early finding out pathogens at different anatomical regions. Spectrum of pathogens from patients was changing by time. There were noticed elimination, repeat and superinfection – finding out pathogen, which was not present in bacteriological tests at current patient before. Data was used for optimizing antibacterial therapy at Level 1 Trauma center.

Conclusion. At Level 1 Trauma center microbiological monitoring should be provided both as permanent measures and as multiple repeated bacteriological test in cases with wounds and trauma with infectious complications for timely correction of antibacterial therapy.

ПРИМЕНЕНИЕ ФЛУКОНАЗОЛА В ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ ОНИХОМИКОЗОМ СТОП, ПРОТЕКАЮЩЕГО С ПРОГНОСТИЧЕСКИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫМИ КЛИНИЧЕСКИМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ

Котрехова Л.П., Разнатовский К.И., Цурупа Е.Н.

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

FLUCONAZOLE IN TREATMENT OF TOENAIL ONYCHOMYCOSIS, OCCURRING WITH PROGNOSTICALLY UNFAVORABLE CLINICAL MANIFESTATIONS

Kotrehkova L.P., Raznatovsky K.I., Tsurupa E.N.

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

Заболеваемость онихомикозом стоп в регионах с разными климатическими условиями варьирует от 4 до 21%. Применение современных антифунгальных препаратов не всегда позволяет добиться высокой эффективности терапии онихомикоза стоп, протекающего с плохими прогностическими факторами. Особенную трудность представляет терапия пациентов из групп риска развития нежелательных явлений при использовании системных антимикотиков таких, как тербинафин и итраконазол.

Цель исследования – показать преимущество комбинированной терапии онихомикоза стоп (флуконазолом и аморолфином) над монотерапией (флуконазолом) у больных онихомикозом стоп, протекающим с прогностически неблагоприятными клиническими проявлениями.

Материал и методы. По дизайну исследование было одноцентровым, открытым, проспективным, рандомизированным, сравнительным. В исследование после скрининга было включено 300 больных онихомикозом стоп, протекающим с прогностически неблагоприятными клиническими проявлениями. Пациенты были распределены в 2 группы по 150 человек. Первая группа больных получала комбинированную терапию флуконазолом (Дифлюкан) и лаком с аморолфином (Лоцерил); второй группе – назначали монотерапию флуконазолом (Дифлюканом).

Результаты. Полная эффективность комбинированной антифунгальной терапии составила 59,1%, а полная эффективность монотерапии системным антимикотиком была на 15,2% ниже и составила 43,9% ($\chi^2_{df=1}$; $p < 0,001$).

Заключение. В исследовании доказано, что комбинированное лечение флуконазолом и лаком с аморолфином онихомикоза стоп, протекающего с прогностически неблагоприятными клиническими проявлениями, более эффективно, чем монотерапия флуконазолом. Высокий профиль безопасности флуконазола обеспечивает возможность его назначения для лечения онихомикоза стоп пациентам с высоким риском развития нежелательных явлений.

НАФТИФИН ГИДРОХЛОРИД В ТЕРАПИИ МИКОЗА СТОП, ОСЛОЖНЕННОГО БАКТЕРИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ И ПРОТЕКАЮЩЕГО С ВЫРАЖЕННОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИЕЙ

Котрехова Л.П., Разнатовский К.И., Шурпицкая О.А., Босак И.А., Вашкевич А.А.

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

NAFTIFINE HYDROCHLORIDE THERAPY TINEA PEDIS, COMPLICATED BY BACTERIAL INFECTION WITH THE EXPRESSION OF INFLAMMATORY REACTIONS

Kotrehkova L.P., Raznatovsky K.I., Shurpitskaya O.A., Bosak I.A., Vashkevich A.A.

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

Микоз стоп – одна из наиболее часто встречающихся клинических форм грибковой инфекции кожи. Его распространенность может достигать 70%. За последние 2 десятилетия отмечают рост осложнений микоза стоп, в том числе – присоединения вторичной (бактериальной) инфекции, которая меняет характер течения и клиническую картину заболевания, что выражается в возникновении выраженной воспалительной реакции в очагах поражения кожи. Выбор комбинированных препаратов, содержащих глюкокортикостероиды, для лечения данного контингента больных не во всех случаях позволяет добиться лучшего результата, чем при назначении монотерапии антимикотиком широкого спектра действия, обладающего противовоспалительным и антибактериальными свойствами.

Цель исследования – показать, что эффективность нафтифина гидрохлорида (крема Экзодерил®) сопоставима с эффективностью комбинированного крема, содержащего бетаметазон дипропионат, клотримазол и гентамицин сульфат в терапии микоза стоп, осложненного бактериальной инфекцией и протекающего с выраженной воспалительной реакцией.

Материал и методы. Объектом исследования были пациенты с микозом стоп, осложненным бактериальной инфекцией и протекающим с выраженной воспалительной реакцией. Возбудителей микоза стоп выявляли методами прямой микроскопии с 10% раствором КОН и посевом на среду Сабуро. Наличие бактериальной инфекции в очагах поражения подтверждали результатами посевов на среды: мясо-пептонный бульон, мясо-пептонный, кровяной и желточно-солевой агары.

Результаты. В исследование было включено 75 больных в возрасте от 23 до 80 лет, которые были рандомизированы в 2 группы. В первую группу (нафтифина) вошли 36 человек, а во вторую группу (бетаметазона, клотримазола, гентамицина) – 39. при сравнительной оценке антибактериального действия нафтифина и комбинированного препарата, содержащего бетаметазон, клотримазол и гентамицин, выявили, что тот и другой препарат были одинаково эффективны. Полной санации бактериальной инфекции достигли (как в первой, так и во второй группах) у 94% больных. Микологическая эффективность нафтифина (крема Экзодерил®) была статистически достоверно выше (на 15%), чем у трехкомпонентного комбинированного препарата, и составила 97% против 82% (χ^2 , $p = 0,03$). Полное выздоровление удалось достигнуть у 92% больных, пролеченных кремом с нафтифином гидрохлоридом, и у 82% пациентов, получавших лечение комбинированным трехкомпонентным препаратом (χ^2 , $p = 0,22$).

Заключение. Установили, что крем Экзодерил® (действующее вещество – нафтифин) высокоэффективен в терапии разных клинических форм микоза кожи, в том числе – протекающих с выраженной воспалительной реакцией и/или присоединением бактериальной инфекции.

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ И ИХ КОМПЛЕКСА НА МИКРОБИОТУ КИШЕЧНИКА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДИСБИОЗЕ

Котылева М.П., Тарасова Е.А., Елисеев А.В., Ермоленко Е.И.
Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

INFLUENCE OF PROBIOTIC BACTERIA AND THEIR COMPLEX ON INTESTINAL MICROBIOTA IN EXPERIMENTAL DYSBIOSIS

Kotyleva M.P., Tarasova E.A., Eliseev A.V., Ermolenko E.I.
Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

Цель – сравнительное исследование микробиоты кишечника крыс после коррекции антибиотико-ассоциированного дисбиоза различными пробиотическими бактериями и их комплексом.

Материалы и методы. В исследовании использовали самцов крыс Вистар с дисбиозом, вызванным внутривентрикулярным введением ампициллина и метронидазола в течение трех дней. Затем, в течение 5 суток, крысы групп L, B, E и M получали бактериальных суспензий: *Lactobacillus rhamnosus* K32, *Bifidobacterium longum* GT15, *Enterococcus faecium* L3 или их смесь соответственно. Крысам из первой контрольной группы (K1) после индукции дисбиоза вводили фосфатный буфер. Животные из второй контрольной группы (K2) в течение трех дней получали дистиллированную воду, затем 5 дней – фосфатный буфер. На 9-ый день эксперимента были собраны пробы фекалий для оценки состава микробиоты при помощи ПЦР в режиме реального времени и культурального метода.

Результаты. При помощи РТ-ПЦР установлено, что содержание бифидобактерий было максимальным в группах K2 и M, значительно меньше – в группе K1. В группе K1 и L отмечали снижение *Faecalobacterium prausnitzii*. В группе K1 выявили большее количество *Bacteroides fragilis*, чем в K2. Введение суспензии *E. faecium* L3 способствовало снижению количества *Bacteroides fragilis*. Высокое (более 5 lg КОЕ/г) содержание *Klebsiella* spp. или *Proteus* spp. обнаружили только в группах K1, B и L. При использовании бактериологического метода выявили: 1) более низкое содержание *Proteus* spp. в группах L, E и M по сравнению с группой K1; 2) меньшее количество *Klebsiella* spp. в группах M и E по сравнению с группами K1 и L.

Заключение. Исползованные методы для анализа микробиоценозов дополняют друг друга. Они помогают создать более объективное представление о микробиоте кишечника, учитывая количественное содержание жизнеспособных бактерий и ДНК трудно культивируемых микроорганизмов. Воздействие штаммов *L. rhamnosus* K32, *B. longum* GT15, *E. faecium* L3 и их комплекса при коррекции экспериментального дисбиоза кишечника приводит к элиминации патогенных энтеробактерий, более выраженной при воздействии энтерококков и симбиотика. Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-01861.

The aim of the study is a comparative analysis of intestinal rat's microbiota after correction of antibiotic associated dysbiosis by different probiotic bacteria and their complex.

Materials and methods. Male Wistar rats with dysbiosis induced by intragastrically administration of ampicillin and metronidazole (for 3 days) were used in this experiment. Rats from L, B, E and M groups received (for 5 days) after antibiotic injection bacterial suspension *Lactobacillus rhamnosus* K32, *Bifidobacterium longum* GT15, *Enterococcus faecium* L3 or their complex, respectively. Phosphate buffer was administered to rats from the first control group (C1) after dysbiosis induction. Animals from the second control group (C2) received distilled water for 3 days and then phosphate buffer for 5 days. On the 9th day fecal samples were collected for the study of microbiota by PCR in real time (PCR-RT) and by cultural method.

Results. The maximal content of bifidobacterium was found in C2 and M groups. The quantity of these bacteria in C1 group was significantly less. Reduction of *Faecalobacterium prausnitzii* was revealed only in C1 and L groups. The contents of *Bacteroides fragilis* was in C1 group more, than in C2 group. Administration of *E. faecium* L3 led to the reduction of *Bacteroides fragilis*. High level (more than 5 lg CFE/g) of *Klebsiella* spp. или *Proteus* spp. was detected only in C1, B и L groups. It was revealed bacteriologically that the content of *Proteus* spp. in L, E and M groups was lower than in group C1 and the content of *Klebsiella* spp. was in groups M and E much less than in groups C1 and L.

Conclusion. The methods used for the analysis of microbiocenosis

are complementary. They help create a more objective picture of the intestinal microbiota, considering quantification of viable bacteria and DNA of difficult cultivated microorganisms. Effects of *L. rhamnosus* K32, *B. longum* GT15, *E. faecium* L3 strains and their complex to correction of experimental intestinal dysbiosis could lead to elimination of pathogenic enterobacteria and were more pronounced after the influence of enterococci and probiotic bacteria complex. This work was supported by grant RF № 13-04-01861.

ВЛИЯНИЕ КОМБИНАЦИЙ АНТИСТАФИЛОКОККОВЫХ АНТИБИОТИКОВ С МОКСИФЛОКСАЦИНОМ НА БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ У КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ MRSA IN VITRO

Краснова М.В., Божкова С.А., Полякова Е.М., Рукина А.Н., Шабанова В.В.

Российский НИИ травматологии и ортопедии, Санкт-Петербург, Россия

EFFECT OF ANTI-STAPHYLOCOCCAL ANTIBIOTICS IN COMBINATIONS WITH MOXIFLOXACIN ON BIOFILM FORMATION IN CLINICAL STRAINS OF MRSA IN VITRO

Krasnova M.V., Bozhkova S.A., Polyakova E.M., Rukina A.N., Shabanova V.V.

Vreden Russian Research Institute for Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg, Russia

Цель – оценить эффективность ингибирующего действия комбинаций антистафилококковых антибиотиков (АБ) с моксифлоксацином на формирование биопленок клиническими штаммами MRSA *in vitro*.

Материалы и методы. В исследование включено 27 штаммов MRSA от пациентов с инфекцией протезированного сустава. В данной выборке преобладали штаммы (n=16) с повышенными значениями МИК ванкомицина (1,5-2 мкг/мл) и сильной способностью к биопленкообразованию (БПО). В комбинациях с моксифлоксацином (MXF) (4,5 мкг/мл) протестированы: гентамицин (GEN), даптомицин (DAP), фосфомидин (FOF), линезолид (LZD), рифампицин (RIF), ко-тримоксазол (SXT) и ванкомицин (VAN) в концентрациях (16, 60, 25, 15, 4, 9, 20, 4 мкг/мл соответственно), соответствующих средним сывороточным, при внутривенном введении. БПО изучали *in vitro* на 96-луночных микропланшетах с окрашиванием генциан-виолетом. Продукцию биопленки до и после обработки АБ оценивали спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность (ОП) ($\lambda=540$ нм). Результаты выражали как эффективность ингибиции (% снижения значений ОП₅₄₀) в сравнении с контролем. Статистический анализ проводили с использованием Z-критерия.

Результаты. Эффективность ингибирования протестированных комбинаций АБ составила, в среднем, 20,7-30,4%. Наиболее эффективно (на 60-80%) подавляли БПО комбинации MXF с DAP, FOF и LZD в отношении 70,4; 51,9 и 48,1% штаммов MRSA соответственно. При действии комбинаций АБ на штаммы с выраженной способностью к БПО установлен значимо меньший (p<0,05) ингибирующий эффект, чем при действии на слабые биопленкообразователи: в среднем, 27 vs 35% соответственно. Комбинация VAN+ MXF была эффективна в отношении 54,5% штаммов с МИК_{VAN} <1,5 и в отношении 25% – с МИК_{VAN} ≥1,5 мкг/мл (p<0,05).

Выводы. Среди протестированных наиболее эффективными комбинациями антибиотиков были MXF+DAP и MXF+FOF, которые, благодаря сочетанию различных механизмов действия, могли бы служить весомой альтернативой антистафилококковой монотерапии.

Objective. To estimate the inhibiting effect of antistaphylococcal antibiotics in combination with moxifloxacin on biofilm formation by MRSA clinical strains *in vitro*.

Methods: Twenty seven MRSA strains isolated from patients with prosthetic joint infection were included in this study. The majority of the strains (n=16) had increased vancomycin MICs (1,5-2 µg/ml) and strong biofilm-forming capacity (BFC). Each of following antimicrobials: gentamicin (GEN), daptomycin (DAP), fosfomicin (FOF), linezolid (LZD), rifampicin (RIF), co-trimoxazole (SXT) and vancomycin (VAN), in concentrations

of 16, 60, 25, 15, 4, 9, 20, 4 µg/ml respectively, were tested in combination with moxifloxacin (MXF, 4,5 µg/ml). 96-well plates and the crystal violet staining method were used for *in vitro* study of BFC. The biofilm production was estimated by the optical density measurement at 540 nm. The results were represented as inhibitory effectiveness, i.e. percentage (%) reduction of OD₅₄₀ values compared to the control (without antibiotics). Statistical analysis was performed with Z-test.

Results: On the average, the inhibitory effectiveness of all the test antibiotic combinations was 20,7-30,4%. The most inhibitory effectiveness (60-80%) was shown for the combinations of MXF with DAP, FOF or LZD against 70,4%, 51,9% and 48,1% MRSA strains respectively. In case of strong biofilm formers the inhibitory effectiveness was 27%, that was significantly less ($p < 0,05$), then for weak biofilm formers (35%). The combination of VAN+MXF was effective against 54,5% strains with MIC_{VAN} <1,5 and for 25% strains with MIC_{VAN} ≥1,5 µg/ml ($p < 0,05$).

Conclusions: MXF+DAP and MXF+FOF combinations were the most effective and given that MXF, DAP and FOS have different mechanisms of acting, these combinations can be used as alternative to antistaphylococcal monotherapy.

ДИНАМИКА ЧАСТОТЫ ОБНАРУЖЕНИЯ АНТИТЕЛ К ВИРУСУ ГЕПАТИТА С У ПАЦИЕНТОВ КРУПНОГО МНОГОПРОФИЛЬНОГО СТАЦИОНАРА В ПЕРИОД С 2004 ПО 2012 ГОДЫ

¹Кудрявцева Е.Н., Корабельникова М.И., Красавченко К.С., Мантров А.И., Хоруженко А.С., ³Лавров В.Ф., ²Ярош Л.В., ²Семенов Т.А., ¹Кузин С.Н.

¹Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф.Владимирского; ² Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ; ³НИИ вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова РАМН, Москва, Россия

THE DYNAMICS OF HCV ANTIBODIES DETECTION IN PATIENTS OF THE MULTIPROFILE HOSPITAL DURING 2004 - 2012 YEARS

¹Kudryavtseva E.N., Korabelnikova M.I., Krasavchenko K.S., Mantrov A.I., Horuzhenko A.S., ³Lavrov V.F., ²Yarosh L.V., ²Semenenko T.A., ¹Kuzin S.N.

¹Moscow Regional Research Clinical Institute named M.F. Vladimirovsky; ² Gamaleya Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology; ³ Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia

Цель исследования – определить частоту обнаружения анти-ВГС (вирус гепатита С) и тенденции ее многолетней динамики у пациентов, госпитализированных в МОНИКИ им. М.Ф.Владимирского в период с 2004 по 2012 гг.

Пациенты и методы. За указанный период при госпитализации в различные отделения МОНИКИ им. М.Ф.Владимирского на наличие анти-ВГС обследованы 151150 пациентов. Детекцию анти-ВГС выполняли в Головной лаборатории диагностики СПИД и вирусных гепатитов МОНИКИ им. М.Ф.Владимирского с помощью иммуноферментных тест-систем и подтверждающих тестов производства ЗАО «ВекторБест» (Новосибирск).

Результаты. Общий средний показатель удельного веса пациентов с анти-ВГС в крови за данный период составил 4,57%, для хирургических и терапевтических отделений (взрослые/дети) – 5,5%/2,5% и 3,9%/2,6% соответственно. Максимальные показатели зарегистрировали в 2004 г., они составили для контингента взрослых пациентов 7,5% (хирургические отделения) и 4,8% (терапевтические отделения). В 2012 г. удельный вес пациентов с анти-ВГС этих отделениях снизился до 4,4% и 3,4%. Тенденциями многолетней динамики были выраженные (-7,1% в год) и умеренное (-4,0% в год) снижение. Удельный вес детей с анти-ВГС, госпитализированных в хирургические и педиатрическое отделения, в 2004 г. составлял 5,3% и 5,7%, в 2012 г. – 1,9% и 1,3% соответственно. Темпы снижения удельного веса детей с анти-ВГС в хирургических и педиатрическом отделениях были весьма высоки и соответствовали выраженному снижению (-17,1% и -27,4% в год).

Заключение. Данные о многолетней динамике показателей удельного веса пациентов с анти-ВГС, госпитализированных в крупный многопрофильный стационар, являются важным параметром мониторинга эпидемиологической ситуации в регионе исследова-

ния и помогают определить направление и интенсивность развития эпидемического процесса. Базируясь на полученных результатах, можно констатировать, что в Московской области имеет место общее улучшение в отношении гепатита С.

ДИНАМИКА ПРОБЛЕМ МИКОЛОГИИ И ЭПИДЕМИОЛОГИИ В ВОЛОГОДСКОМ ОБЛАСТНОМ ОНКОЛОГИЧЕСКОМ ДИСПАНСЕРЕ ЗА ПОСЛЕДНИХ 10 ЛЕТ

Кузьмина Н.А.¹, Зинченко М.А.¹, Зинченко А.В.²

¹ Вологодский областной онкологический диспансер, Вологда;

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им.Павлова, Санкт-Петербург, Россия

DYNAMICS PROBLEMS OF MYCOLOGY AND EPIDEMIOLOGY IN THE VOLOGDA REGIONAL ONCOLOGY CENTER FOR LAST 10 YEARS

Kuzmina N.A.¹, Zinchenko M.A.¹, Zinchenko A.V.²

¹ Vologda Regional Oncology Center, Vologda; ² First Pavlov State Medical University, St.Peterburg, Russia

Цель – оценка микотической контаминации в стационаре в динамике за 10 лет.

Материалы и методы. В рамках производственного контроля проводили анализ и оценку бактериальной и грибковой биоты отобранного воздуха в помещениях стационара. Выделение и подсчет выполняли в Вологодской бактериологической лаборатории и лаборатории НИИ им. П.Н. Кашкина. Одновременно осуществляли микологическое исследование мокроты онкологических больных, находящихся на торакальном отделении, и оценку результатов за 10 лет.

Результаты. Процент контаминации воздуха микромицетами за 2005-2009 гг. составил, в среднем, 57,9%. После поэтапно проведенных ремонтных работ на отделениях и смены ряда вентиляционных систем, частично снизилась контаминация воздуха плесневыми грибами. В 2009 г. процент неудовлетворительных проб составил 39,8%, а в 2010-2011 гг. – 35%. Наиболее подверженными оказались помещения операционного блока (6 операционных) и отделение с палатами для больных интенсивной терапии, расположенные на самом верхнем – 6-м этаже. При идентификации выделили 7 родов условно-патогенных плесневых грибов: *Cladosporium cladosporioides*, *Chaetomium globosum*, *Acremonium recifer*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus nidulans*. Учитывая показатель контаминации, проводили капитальные ремонтные работы в операционных в 2013-2014 гг. с реконструкцией стен, заменой вентиляционных установок. При лабораторных микологических исследованиях в декабре 2014 г. для открытия отделений пробы воздуха получили без бактериальной и грибковой контаминации.

Изучали диагностический материал (мокроту) при обследовании онкологических торакальных больных в бактериологической лаборатории за 10 лет. Наблюдала 3519 человек, из них обследовали на грибковые культуры 2436 (69,2%). Положительные результаты получили у 713 больных (в среднем, 20,3%), т.е. у каждого пятого больного. Выделяли *Candida albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. kefyr*. Те же виды и в одинаковом процентном соотношении выявляли и при обследовании персонала.

Заключение. Микологические исследования во внешней среде – воздухе, согласно последнему СанПиНу (2.1.3.2630-10), не обязательны, однако необходимы для анализа работы отделений, своевременного определения необходимости проведения капитальных ремонтных работ. Поэтому основной проблемой остается предупреждение внутрибольничных заболеваний от больного к больному и от больного персоналу, с соблюдением всех разделов последнего СанПиНа.

Purpose - the assessment of mycological contamination in the hospital in dynamics for 10 years.

Materials and methods. As a part of the production control we conducted an analysis and evaluation of bacterial and fungal biota in the air of hospital premises. Performing and counting were carried out in the bacteriological laboratory in Vologda and in Kashkin Research Institute of Medical Mycology. Simultaneously we performed mycological examination of sputum cancer of patients from thoracic department and

evaluation of results for 10 years.

Results. The percentage of air contamination with micromycetes for the 2005-2009 years amounted an average 57,9%. Air contamination with mold fungi partially reduced after repair work in the hospital's departments and changing ventilation systems. In 2009 the percentage of unsatisfactory samples was 39,8%, in 2010-2011 – 35%. The most vulnerable areas were operating rooms and intensive care rooms, which are on the top sixth floor. In the identification were isolated 7 species of opportunistic mold fungi: *Cladosporium cladosporioides*, *Chaetomium globosum*, *Acremonium recifer*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus nidulans*. In 2013-2014 years in our hospital was made an overhaul of operating rooms with the reconstruction of walls, replacement of ventilation systems taking into account indicators of contamination. In mycological research in December 2014 for the opening of departments air samples obtained without bacterial and fungal contamination.

In bacteriological laboratory also studied oncology thoracic patients' diagnostic material (sputum) for 10 years. There were 3519 people, of whom tested for fungal cultures in 2436, which amounted to 69.2%. Positive results were obtained in 713 patients (20.3%) - every fifth patient. *Candida albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. kefyr* were isolated. The same species and in the same percentage were revealed in the survey staff.

Conclusion. Mycological studies in the environment - air, according to the latest sanitary manufacturing standards are not mandatory, but are necessary for the analysis of the departments' work, the timely identification of the need for capital repairs. Therefore, the main problem is the prevention of nosocomial diseases from patient to patient and from patient to staff in compliance with all sections of the latest sanitary manufacturing standards.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ ENTEROBACTERIACEAE, ВЫДЕЛЕННЫХ ПРИ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

^{1,2}Кулуев Б.Р., ²Пискунова А.В., ²Мавзютов А.Р.

¹Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН;

²Башкирский государственный медицинский университет МЗ РФ, Уфа Россия

MOLECULAR GENETIC CHARACTERIZATION OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF CLINICAL STRAINS OF ENTEROBACTERIACEAE ALLOCATED IN ACUTE INTESTINAL INFECTIONS

^{1,2}Kuluyev B.R., ²Piskunova A.V., ²Mavzyutov A.R.

¹Institute of biochemistry and genetics Ufa scientific centre of RAS;

²Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

Острые кишечные инфекции (ОКИ) занимают второе место по заболеваемости во всем мире, в России ежегодно регистрируют до 700-800 тыс. случаев. Спектр вероятных возбудителей ОКИ исключительно широк. В качестве этиологических агентов могут выступать представители целого ряда семейств, однако наибольшее значение имеют представители семейства *Enterobacteriaceae*, являющихся преимущественно условно-патогенными, встречающимися и в норме.

Одним из наиболее эффективных способов профилактики этих заболеваний является своевременное выявление больных и установление источника их инфицирования для проведения всего комплекса противозидемических мероприятий. В связи с этим в каждом случае обследования заболевшего возникает необходимость оценки роли выделенной культуры в развитии заболевания и выявления её особенностей, которые помогли бы установить источник инфекции. Применяемые для этого методы типирования являются фенотипическими (биотипирование, серотипирование, фаготипирование и др.), что сводит на нет их информативность на практике ввиду выраженной вариабельности. Вместе с тем, этиологически и эпидемиологически значимые штаммы, как правило, отличаются антибиотикорезистентностью. В настоящее время описаны родственные гены антибиотикорезистентности, встречающиеся у бактерий разных родов. Использование генов антибиотикорезистентности может

представлять большой интерес для типирования болезнетворных микроорганизмов.

Цель исследования – разработка методов идентификации и генотипирования микроорганизмов, основанных на детекции генетических детерминант антибиотикорезистентности методом полимеразной цепной реакции.

Материалы и методы. Из клинического материала (кал) было выделено и исследовано 120 образцов тотальной ДНК. Для подбора праймеров использовали последовательности геномов представителей семейства *Enterobacteriaceae*, опубликованные в GenBank. Поиск гомологичных генов осуществляли при помощи программ MegAlign пакета Lasergene (DNASTAR, США) и программы MegaBlast доступной через сайт <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Для подбора оптимальных и высокоспецифичных праймеров применяли программу PrimerSelect пакета Lasergene (DNASTAR, США). ПЦР проводили с помощью амплификаторов производства компании «ДНК-технология» (Россия). Качество и количество амплифицированных фрагментов ДНК определяли аналитическим электрофорезом в 1,5% агарозном геле. Агарозный гель-электрофорез осуществляли в приборах модели Sub-Cell GT WIDE MINI (Bio-Rad, США). После окончания электрофореза, гели окрашивали бромистым этидием и фотографировали на фотодокументационной системе Gel Camera System (UVP, Inc. США).

Результаты. Нами были подобраны видоспецифичные праймеры для ПЦР-идентификации ряда представителей семейства *Enterobacteriaceae*. В проанализированных 120 образцах *Klebsiella pneumoniae* обнаружили в 59 случаях, *Salmonella enteritidis* – в 10, *Shigella flexneri* – в 4, *E. coli* – в 35, *Proteus morganii* – в 27, *Hafnia alvei* – в 67, *Citrobacter* sp. – в 14. После определения возможного видового состава *Enterobacteriaceae* в клинических образцах, нами были подобраны праймеры для амплификации гена устойчивости к ванкомицину *K. pneumoniae*. Была подобрана пара праймеров с оптимальной температурой отжига при 58 °С, а длина амплифицируемого участка должна была составить 200 п.н. Ген устойчивости к ванкомицину обнаружили в 19 клинических образцах, содержащих *K. pneumoniae*. Амплификация гена устойчивости к ванкомицину прошла успешно в 17 образцах, содержащих *E. coli*, по 1 образцу, содержащих *S. enteritidis* и *S. flexneri*; в 12 образцах, где предполагалось наличие *P. morganii*. ПЦР-анализом показано наличие гена устойчивости к ванкомицину в 27 образцах, в которых наблюдали лишь *H. alvei*. Искомый ген также был выявлен в 7 клинических образцах, принадлежащих *Citrobacter* sp.

Заключение. Классические методы определения чувствительности к антибиотикам имеют ряд недостатков: возможность контаминации, невысокую чувствительность, продолжительный анализ. Разрабатываемые в нашей работе методы ПЦР-анализа генов как генетических маркеров вносят вклад в развитие технологий для экспресс-типирования микроорганизмов, а также быстрого внесения предложений по этиотропному лечению и применению эффективных антибиотиков. При этом полученные нами данные дают возможность предполагать, что одни и те же гены антибиотикорезистентности могут содержаться в геномах бактерий, принадлежащих не только разным видам, но и разным родам.

ЛЕЧЕНИЕ БОЛЬНЫХ С ВЫЯВЛЕННЫМ ЛАРИНГОМИКОЗОМ

Кунельская В.Я., Романенко С.Г., Шадрин Г.Б., Красникова Д.И., Андреевкова О.А.

Научно-исследовательский клинический институт оториноларингологии им. Л.И. Свержевского, Москва, Россия

TREATMENT OF PATIENTS WITH DIAGNOSED LARYNGOMYCOSIS.

Kunelskaya V.Ya., Shadrin G.B., Romanenko S.G., Krasnikova D.I., Andreenkova O.A.

Sverzhewskiy Otorhinolaryngology Healthcare Research Institute, Moscow, Russia

Цель исследования – разработать лечебно-диагностический алгоритм у больных с ларингомикозом.

Материалы и методы. За период с 2008 по 2013 гг. обследовано 280 взрослых больных хроническим ларингитом, которым провели комплексную оценку клинично-функционального состояния гортани с применением современной эндомикроскопической техники. Выпол-

няли этапное микологическое обследование, включавшее микроскопию патологического отделяемого (окраска по Граму и калькофлюором белым), посев для видовой и родовой идентификации возбудителей, определение титра выделенных грибов. Диагноз «ларингомикоз» устанавливали только после лабораторного подтверждения (титр выделенных грибов не менее $1,0 \cdot 10^4$ КОЕ и определение в мазках активно вегетирующих грибов).

Результаты. Ларингомикоз выявили у 91 больного из 280 (33%), при этом у 89 человек обнаружили *Candida* spp., у 2 – *Aspergillus* spp. Согласно микроларингоскопической картине, мы выделили 3 клинические формы ларингомикоза: гиперпластическую (55%), катаральную (31%) и атрофическую (14%).

После установления диагноза грибкового ларингита, всем больным проведено лечение топическими и системными препаратами (флуконазол, итраконазол, растворы клотримазола и мирамистина). В среднем, длительность одного курса комбинированной противогрибковой терапии составляла 14 суток.

Излечение микоза было достигнуто у 25 пациентов, улучшение – у 66. Излечение диагностировали при нормализации ларингоскопической картины, отсутствии жалоб и элиминации грибковой биоты, подтвержденной результатами лабораторных микологических исследований. У 66 пациентов отмечали улучшение микроларингоскопической картины, что расценивали как улучшение течения заболевания (стойкая ремиссия хронического воспалительного процесса), однако при лабораторных исследованиях выявляли микобиоту. Всем 66 больным провели повторные курсы противогрибкового лечения (в течение 10 дней), в результате чего достигнута элиминация возбудителя.

Повторное обследование пациентов (клиническое и лабораторное) выполняли по окончании курса терапии и через 2 и через 8 недель, а также при рецидиве жалоб и ухудшении микроларингоскопической картины.

Выводы. 1) Пациенты с ларингомикозом любой формы (катаральной, атрофической, гиперпластической) нуждаются в повторных микологических обследованиях и наблюдении за динамикой микроларингоскопической картины. 2) Повторное микологическое обследование следует проводить после окончания курса лечения и через 2 и 8 недель, а также каждый раз при возобновлении жалоб или ухудшении микроларингоскопической картины. 3) Курс лечения ларингомикоза должен составлять не менее 2-х недель, его необходимо продолжать до полной нормализации микроларингоскопической картины и получения отрицательных результатов микологического исследования.

Objectives: to develop diagnostic and treatment algorithm for patients with laryngomycosis.

Materials and methods. During the period from 2008 to 2013 were examined 280 adult patients with chronic laryngitis, who had a comprehensive evaluation of the clinical and functional condition of the larynx using modern endoscopic and microscopic techniques. We performed stepwise mycological examination including microscopy of pathological secretions (Gram stain and stain with calcofluor white) and sowing it for the species and genus identification of pathogens and to determine the titer of isolated fungi. The diagnosis of laryngomycosis was established only after laboratory confirmation (the criteria for the diagnosis of fungal laryngitis were to identify active vegetative fungi in the smears and isolation of fungi culture at least $1.0 \cdot 10^4$ КОЕ).

Results. Laryngomycosis was diagnosed in 91 patients out of 280 (33%), while in 89 people were found *Candida* spp., in 2 - *Aspergillus* spp. According to microlaryngoscopic picture, we have identified three clinical forms of laryngomycosis: hyperplastic (55%), catarrhal (31%) and atrophic (14%).

After diagnosis of fungal laryngitis, all patients were treated with topical and systemic drugs (fluconazole, itraconazole, solutions of clotrimazole and miramistin). On average the duration of one course of the combined antifungal therapy was 14 days.

Recovery from mycosis was achieved in 25 patients, improvement - in 66. Recovery was defined as normalization of laryngoscope pictures, no complaints and elimination of fungal biota, confirmed by laboratory mycological research. In 66 patients was an improvement of microlaryngoscopic picture that was regarded as an improvement of the disease (remission of chronic inflammatory process), but in laboratory studies mycobiota was detected. All 66 patients underwent repeated courses of antifungal treatment (within 10 days), resulting in the elimination of the pathogen.

Re-examination of patients (clinical and laboratory), we performed at

the end of therapy and after 2 and 8 weeks, and in case of recurrence of complaints and deterioration of microlaryngoscopic picture.

Conclusion. 1) Patients with laryngomycosis of any form (catarrhal, atrophic, hyperplastic) in need of repeated mycological examination and observation of the dynamics of microlaryngoscopic picture. 2) Repeated mycological examination should be performed after the end of treatment and after 2 and 8 weeks, and each time in case of recurrence of complaints and deterioration of microlaryngoscopic picture. 3) The course of treatment of laryngomycosis should be at least 2 weeks, it is necessary to continue to full normalization microlaryngoscopic picture and negative results of mycological examination.

АСПЕКТЫ РАЦИОНАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ МИКОЗА ЛОР-ОРГАНОВ

Кунельская В.Я., Шадрин Г.Б., Мачулин А.И., Красникова Д.И., Андреенкова О.А.

Научно-исследовательский клинический институт оториноларингологии имени Л.И. Свержевского, Москва, Россия

ASPECTS OF RATIONAL THERAPY MYCOSIS OF ENT-ORGANS

Kunelskaya V.Ya., Shadrin G.B., Machulin A.I., Krasnikova D.I., Andreenkova O.A.

Sverzhevskiy Otorhinolaryngology Healthcare Research Institute, Moscow, Russia

Проблема микозов ЛОР-органов остается актуальной.

Цель работы – ознакомление врачей-оториноларингологов с современными принципами диагностики и лечения различных по локализации и характеру клинических проявлений микозов верхних дыхательных путей и уха.

Методы и средства. Диагноз грибкового заболевания ЛОР-органов мы устанавливали только на основании комплексных лабораторных микологических исследований, включающих микроскопию и посев проб биологического материала, отобранного под контролем увеличивающей оптики (операционный микроскоп, эндоскопическая техника).

Результаты. В 2010-2014 гг. среди 5618 пациентов с хронической воспалительной патологией ЛОР-органов, обратившихся в клинические отделения Института, грибковое поражение установлено у 1303 (23,2%), из них фарингомикоз – у 689 (53%), отомикоз – у 495 (38%), ларингомикоз – у 65 (5%), микоз носа и околоносовых пазух – у 53 (4%).

При грибковом поражении глотки и гортани в качестве возбудителя лидировали *Candida* spp. (97-99% наблюдений). При отомикозе выделяли грибы родов *Aspergillus* (65%), *Penicillium* (5%) и *Candida* (30%). При микозе полости носа и околоносовых пазух (ОНП) на долю плесневых грибов пришлось до 78% поражений. Основной возбудитель – *Aspergillus* sp., виды – *fumigatus* и *niger*, в отдельных случаях у иммунокомпрометированных больных грибковые заболевания ОНП вызывали грибы родов *Mucor* и *Alternaria*.

Лечение мы всегда начинали с элиминации возбудителя. Коррекцию общих и местных предрасполагающих факторов проводили параллельно либо вторым этапом.

При терапии отомикоза применяли нафтифин, хлорнитрофенол и клотримазол в виде посменных аппликаций спиртовых растворов на ватных турундах. При проведении местного лечения фарингомикоза препаратами выбора были нистатин и клотримазол в виде полосканий и смазываний слизистой оболочки 4-5 раз в день, не менее 3-4 недель под обязательным лабораторным контролем.

Спецификой лечения грибкового поражения гортани является широкое использование ингаляционного метода для введения лекарственных препаратов. Эффективность аэрозольного метода при воспалительных заболеваниях гортани определяют непосредственным воздействием лекарственного вещества на очаг заболевания и более высокой концентрацией препарата в месте поражения.

При системной терапии кандидозных поражений мы использовали флуконазол – 50-200 мг/сутки 14 дней, при плесневых микозах – итраконазол по 200 мг/сутки 14 дней; через 7 дней курс лечения повторяли.

Медикаментозная терапия микоза ОНП всегда сопровождала и/или предшествовала хирургическому лечению. Хирургическое вмешательство заключается в выполнении радикальной операции на поражённой пазухе экстраназальным методом с полным удалени-

ем всех патологически изменённых тканей. В послеоперационном периоде проводили ежедневные промывания антисептиками и антимикотиками.

Продолжительность применения антимикотиков зависит от клиники заболевания, но должно составлять не менее 14 дней после клинического и лабораторного излечения.

Заключение. В целом, при правильном лечении микоза ЛОР-органов терапия достаточно эффективна. По результатам лечения больных ЛОР-микозами с использованием указанных выше лекарственных средств можно сделать вывод об их высокой эффективности, сопровождающейся элиминацией грибов – возбудителей заболевания и нормализацией клинической картины.

Поскольку грибковые заболевания склонны к рецидивированию, необходимо динамическое диспансерное наблюдение за больным для своевременного проведения профилактических курсов противогрибкового лечения.

The problem of mycoses of upper respiratory tract remains actual.

Objectives: acquaintance otolaryngologists with modern principles of diagnosis and treatment of mycoses of the upper respiratory tract and ear with different localization and clinical manifestations.

Materials and methods. Diagnosis of fungal diseases of ENT we have established based on complex laboratory mycological studies including microscopy and culture samples of biological material taken under the control of magnifying optics (operating microscope, endoscopic equipment).

Results. In 2010-2014, fungal infection was established in 1303 (23.2%) among 5618 patients with chronic inflammatory disorders of upper respiratory tract: faryngomycosis - 689 (53%), otomycosis - 495 (38%), laryngomycosis - 65 (5%), mycosis of the nasal cavity and paranasal sinuses - 53 (4%).

Candida spp. was the main pathogen of fungal infections of the pharynx at (97-99% of cases). Fungi of the genera *Aspergillus* (65%), *Penicillium* (5%) and *Candida* (30%) were isolated at otomycosis. The share of fungi had up to 78% of lesions at mycosis of the nasal cavity and paranasal sinuses. The main pathogen - *Aspergillus* spp. (species - *fumigatus* and *niger*), in some cases, fungal diseases of the paranasal sinuses were caused by fungi of the genera *Mucor* and *Alternaria* (in immunocompromised patients).

We started treatment with the elimination of the pathogen. Correction of general and local predisposing factors was performed in parallel or the second stage.

In the treatment of otomycosis naltifin, hlornitrofenol and clotrimazole were used in the form of applications of alcoholic solutions one by one. Nystatin and clotrimazole were the drugs of choice for local treatment of faryngomycosis as a rinse and smear of the mucous membrane (4-5 times a day, at least 3-4 weeks, under the obligatory laboratory control).

Specificity of the treatment of fungal infections of the larynx is wide use of the method for inhalation drug administration. Efficiency of inhalation method in inflammatory diseases of the larynx is determined by the direct influence and a high concentration of the drug in the focus of the disease.

At systemic treatment of candidal lesions we used fluconazole - 50-200 mg / day, 14 days, of mold mycoses - itraconazole 200 mg / day to 14 days; repeat the treatment after 7 days.

Drug therapy of paranasal sinuses mycosis was accompanied and / or preceded by surgical treatment. Surgical treatment consists in performance of radical surgery on the affected sinus by extranasal method with complete removal of all pathologically changed tissues. Daily washing with antiseptics and antimycotics were performed in the postoperative period.

Duration of antimycotic therapy depends on the clinic of disease, but should be at least 14 days after the clinical and laboratory recovery.

Conclusion. In general, with proper treatment of fungal infections of upper respiratory tract therapy is quite effective. According to the results of treatment of patients with ENT mycosis using the aforementioned medicines, we can make a conclusion about their high efficiency, accompanied by elimination of fungi - pathogens and normalization of the clinical picture.

Because fungal infections tend to recur, it is necessary to carry out dynamic clinical monitoring of patients for timely administration of prophylactic antifungal treatment.

РЕЗУЛЬТАТЫ ГЕНОТИПИРОВАНИЯ И КЛАССИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИДЕНТИФИКАЦИИ В ДИАГНОСТИКЕ ДЕРМАТОМИКОЗОВ

Кухар Е.В.

Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина, Астана, Казахстан

THE RESULTS OF GENOTYPING AND CLASSICAL METHODS OF IDENTIFICATION IN THE DIAGNOSIS OF TINEA

Kukhar E.V.

S. Seifullin Kazakh Agro Technical University, Astana, Kazakhstan

Регламентированным методом лабораторной диагностики в медицинских учреждениях Республики Казахстан является культуральная диагностика микозов; в ветеринарных учреждениях – темнопольная микроскопия элементов пораженных волос, кусочков тканей; их высев на сусло-агар или мясо-пептонный глицериновый агар. Однако процент выявления возбудителей невысокий: культуральным методом – 22-61,5%, микроскопией – 53,8%. Генотипирование дерматомицетов и микромицетов осложняется низким выходом ДНК при выделении из грибов и проблемами подбора праймеров.

Цель – провести сравнительный анализ результатов генотипирования и классических методов идентификации в диагностике дерматомикозов.

Материалы и методы. Работа проведена в рамках Проекта №0430/ГФ, выполненного по 055 программе МОН Республики Казахстан в 2012-2014 гг. Объектом исследования были 167 штаммов микроскопических грибов и 109 проб ДНК, выделенные из возбудителей антропофильных и зооантропофильных дерматомикозов. Идентификацию штаммов проводили фенотипической и генотипической характеристиками дерматомицетов, включающими анализ микро- и макро- морфологических признаков, изучение культуральных и биохимических свойств, мультилокусное сиквенс-типирование по Сенгеру, анализ нуклеотидных последовательностей ДНК в базе данных BLAST. Постановка ПЦР была выполнена с праймерами ITS 5 и ITS 4.

Результаты. При фенотипировании микромицетов выявили, что из всех грибов 78% составили дерматомицеты, 20% – плесени, 2% – дрожжи. По результатам генотипирования 64% проб идентифицировали как дерматомицеты, 2% – как дрожжи, 34% – как плесени. Анализ ДНК дерматомицетов показано, что нами выделены *Trichophyton rubrum*, *T. interdigitale*, *T. tonsurans*, *T. violaceum*, *T. verrucosum*, *T. mentagrophytes*, *Microsporum canis*.

Выводы. При сопоставлении результатов фенотипической и генотипической характеристик установили, что их результаты не совпадают на 100%. Данные наших исследований согласуются с работами других ученых, которые получали аналогичные результаты при работе с дерматомицетами, но связывали это с недостаточной корректностью ITS-праймеров.

Major method of laboratory diagnostics in medical institutions of the Republic of Kazakhstan is a cultural diagnostics of mycosis; in veterinary clinics - dark-field microscopy of affected hair elements, pieces of tissue; their seeding on wort agar or meat-peptone glycerol agar. However, the rate of detection of pathogens is low: by cultural method - 22-61,5%, by microscopy - 53.8%. Dermatophytes and microphytes genotyping is complicated due to low DNA output in isolating from fungi and problems of primers selection.

The aim was to conduct a comparative analysis of genotyping results and classical identification methods in tinea diagnostics.

Materials and methods. Work was carried out in the framework of the project №0430 / GF performed by the program 055 of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan in 2012-2014. The study included 167 strains of microscopic fungi and 109 DNA samples isolated from pathogens of anthropophilic and zoo anthropophilic dermatomycoses. Identification of strains was carried out by phenotypic and genotypic characteristics of dermatophytes including micro and macro analysis of morphological characters, the study of cultural and biochemical properties, multilocus sequence typing by Sanger, analysis of the nucleotide sequences of the DNA in the BLAST database. PCR was performed with the primers ITS 5 and ITS 4.

Results. In phenotyping microphytes it was revealed that among all fungi 78% were dermatophytes, 20% were mold and 2% were yeast.

According to the results of genotyping 64% of the samples were identified as dermatophytes, 2% - as yeast and 34% - as a mold. It was shown by the DNA analysis of dermatophytes that *Trichophyton rubrum*, *T. interdigitale*, *T. tonsurans*, *T. violaceum*, *T. verrucosum*, *T. mentagrophytes* and *Microsporium canis* have been identified.

Conclusions. It was found that results of phenotypic and genotypic characteristics do not match on 100%. The data of our study are in comparison with the work of other scientists who received similar results when working with dermatophytes but associated it with a lack of ITS-primers correctness.

БАКТЕРИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ ИОНИЗИРОВАННОГО СЕРЕБРА

Лабушкина А.В., Макляков Ю.С., Харсеева Г.Г., Сылка О.И.

Ростовский государственный медицинский университет МЗ РФ, Ростов-на-Дону, Россия

BACTERICIDE ACTIVITY OF IONIZED ARGENTIC

Labushkina A.V., Maklyakov U.S., Kharseeva G.G., Sylka O.I.

Rostov State Medical University of MH RF, Rostov-on-Don, Russia

Цель исследования – изучение влияния ионизированного серебра на штаммы бактерий, в том числе – с множественной резистентностью к антибиотикам.

Материалы и методы. Бактерицидные свойства ионизированного серебра изучали методом серийных разведений в полистироловых планшетах (микрометод) по отношению к эталонным и свежeweыделенным штаммам бактерий. Идентификацию выделенных штаммов патогенных бактерий проводили бактериологическим методом. Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью статистических пакетов «Microsoft Excel 2010» и «Statistica 6,0» для WindowsXP с использованием параметрических и непараметрических методов.

Результаты. Минимальная подавляющая концентрация ионизированного серебра составила: 1,56 мг/л – для *Escherichia coli* O55 K59; 3,12 мг/л – для *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *E. coli* O144, *E. coli* 25922; 6,25 мг/л – для *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis* (2 шт.), *Corynebacterium pseudodiphtheriae* (4 шт.), *Proteus vulgaris* НК 19222, *E. coli* K12, *E. coli* ewing 227, *Corynebacterium diphtheriae gravis tox+* №6765, *C. diphtheriae gravis tox+* №665; 12,5 мг/л – для *P. vulgaris*, *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *C. diphtheriae gravis tox+* (циркулирующий), *C. pseudodiphtheriae* (2 шт.), *Proteus mirabilis* 3177, *K. pneumoniae* ATCC 13883, *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Штамм *S. aureus*, выделенный от больного хроническим отитом, обладал множественной устойчивостью к антибактериальным препаратам (пенициллинам, цефалоспорином, нитрофуранам, линкозамидам). Однако его рост подавлял препарат ионизированного серебра в концентрации 12,5 мг/л. МПК препарата в отношении эталонного штамма *S. aureus* ATCC 25923 составила 3,12 мг/л. Рост штамма *K. pneumoniae*, обладающего β-лактамазой расширенного спектра действия, подавлялся ионизированным серебром в концентрации 1,56 мг/л, эталонного штамма *K. pneumoniae* ATCC 13883 – 12,5 мг/л.

Выводы. Ионизированное серебро обладает бактерицидным действием на штаммы бактерий, в том числе – с множественной антибиотикорезистентностью. Это открывает перспективы использования данного препарата для борьбы со штаммами микроорганизмов – возбудителей внутрибольничных инфекций, обладающих множественной резистентностью к антибактериальным и дезинфицирующим средствам.

АНТАГОНИСТИЧЕСКИЕ И АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА CORYNEBACTERIUM PSEUDODIPHThERIAE

Лабушкина А.В., Харсеева Г.Г., Рябова А.М., Тюкавкина С.Ю.

Ростовский государственный медицинский университет МЗ РФ, Ростов-на-Дону, Россия

ANTAGONISTIC AND ADHESIVE PROPERTIES OF CORYNEBACTERIUM PSEUDODIPHThERIAE

Labushkina A.V., Kharseeva G.G., Ryabova A.M., Tukavkina S.U.

Rostov State Medical University of MH RF, Rostov-on-Don, Russia

Цель – изучение адгезивных свойств штаммов *Corynebacterium pseudodiphtheriae* и их антагонистической активности в отношении штаммов патогенных и условно-патогенных бактерий, выделенных от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта, и тест-штаммам.

Материалы и методы. Исследовали 9 штаммов *C. pseudodiphtheriae*, выделенных из верхних дыхательных путей практически здоровых людей при профилактических осмотрах. Все штаммы идентифицировали бактериологическим и молекулярно-генетическим (по 16S рРНК) методами. Антагонистические свойства коринебактерий определяли методом отсроченного антагонизма по отношению к эталонным (*Klebsiella pneumoniae* 418, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Corynebacterium diphtheriae mitis tox-* №6764, *C. diphtheriae gravis tox+* №665) и выделенным от больных (*Streptococcus pyogenes* – 1 шт., *Streptococcus pneumoniae* – 1 шт., *Staphylococcus epidermidis* – 9 шт., *C. diphtheriae gravis tox+* – 1 шт.) штаммам. Гемагглютинирующую активность коринебактерий выявляли методом полукoliического титрования с эритроцитами I(0) группы крови.

Результаты. Антагонистические свойства штаммов *C. pseudodiphtheriae* были различны. Так, по отношению к выделенному от больного пневмонией штамму *S. pneumoniae* антагонистическими свойствами обладали 4 из 9 исследованных штаммов *C. pseudodiphtheriae* (диаметр зоны задержки роста варьировал от 13 до 15 мм). По отношению к токсигенным (*C. diphtheriae gravis tox+* №665 и *C. diphtheriae gravis tox+* циркулирующий) штаммам возбудителя дифтерии антагонистическую активность проявляли 5 штаммов *C. pseudodiphtheriae* (диаметр зоны задержки роста – 12-15 мм).

Ни один из исследованных штаммов *C. pseudodiphtheriae* не проявлял антагонистических свойств по отношению к эталонным (*K. pneumoniae* 418, *S. aureus* ATCC 25923, *C. diphtheriae mitis tox-* №6764) и выделенным от больных (*S. pyogenes* – 1шт., *S. epidermidis* – 9 шт.) штаммам.

Гемагглютинирующую активность не обнаружили ни у одного из исследованных штаммов *C. pseudodiphtheriae*.

Выводы. Отсутствие гемагглютинирующей активности и различная направленность антагонистических свойств *C. pseudodiphtheriae* позволяют рассматривать их возможными кандидатами при создании комбинированных пробиотических препаратов для коррекции биоценоза верхних дыхательных путей.

МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ВОДНЫХ СИСТЕМ. ОПЫТ КАФЕДРЫ МИКРОБИОЛОГИИ

Ластовка О.Н., Коваленко А.Д., Евельсон Е.А.

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

METHODOLOGICAL SUPPORT OF WATER SYSTEMS MICROBIOLOGICAL MONITORING. THE EXPERIENCE OF THE MICROBIOLOGY DEPARTMENT

Lastovka O.N., Kovalenko A.D., Evelson E.A.

North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov; SUE Lengiproengproject, St. Petersburg, Russia

Не рассматривая основные этапы проведения микробиологического мониторинга крупных водных систем, остановимся на его последнем разделе – статистической обработке полученного материала и представлении полученных данных. Кафедра медицинской

микробиологии в 80-х и до середины 90-х годов прошлого столетия выполняла указанную работу в связи со строительством комплекса защитных сооружений Ленинграда/Санкт-Петербурга от наводнения.

Материалы и методы. Пробы воды с 2-х горизонтов (поверхностного и глубинного) отбирали на 47 станциях наблюдения реки Невы (Невской губы) – восточной части Финского залива, более чем на 100 станциях Ладожского озера, на 16 станциях зон выпусков очищенных сточных вод и по ходу строительства защитных сооружений в зоне их влияния (15-20 станций). Исследования проводили более 10 лет. Отметим, что подобные работы в нашей стране никогда не выполняли. Никаких официальных рекомендаций по алгоритму статистической обработки таких массивов данных как не было, так и не существует ныне.

Результаты. Собственный опыт, а также совместная работа с инженерами, гидрохимиками и гидробиологами ряда научных организаций помогли определить перечень методов статистической обработки полученных материалов и критериев (показателей) представления материала.

Заключение. В случае натуральных исследований возможно применение только методов непараметрической статистики (основной закон распределения частот вариационных рядов – закон Пуассона). Использовали следующие критерии: наиболее вероятные интервалы значений признаков (аналог Моды); размах колебаний частот вариационных рядов; значение признака, которое не может быть превышено с вероятностью 95%; среднее квадратическое отклонение; коэффициент ранговой корреляции Спирмена; коэффициент хи-квадрат; биномиальный критерий, а также проведение дисперсионного и регрессионного анализов.

СТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНА CYP51A РЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ ASPERGILLUS SPP. К ПРЕПАРАТАМ ГРУППЫ АЗОЛОВ

Латыпова Е.М., Тараскина А.Е.

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

STRUCTURAL ANALYSIS OF CYP51A GENE IN ASPERGILLUS SPP. STRAINS RESISTANCED TO PREPARATIONS OF AZOLE GROUP

Latypova E.M., Taraskina A.E.

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

Триазолы – группа наиболее широко применяемых противогрибковых препаратов для человека, поэтому формирование резистентности к ним потенциально опасно. Резистентность к азолам *Aspergillus* spp. – сравнительно новая проблема, впервые описанная для *Aspergillus fumigatus* в 1997 г., но в течение последнего десятилетия отмечают её неуклонный рост. Резистентность к итраконазолу распространена в развитых странах (Канада, Индия, Китай, США), причем большая часть этих изолятов обладают перекрестной устойчивостью к вориконазолу и позаконазолу. При этом летальность больных с мульти-азоловой резистентностью при инвазивных формах аспергиллеза составляет 88%, по сравнению с 30-50% пациентов, инфицированных чувствительными штаммами. Основной механизм действия азолов заключается в ингибировании ланостерол-14 α -деметилазы, фермента, участвующего в биосинтезе эргостерола. Снижение чувствительности к азольным антимикотикам связывают с аминокислотными заменами в последовательности гена *cyp51*, кодирующего ланостерол-14 α -деметилазу.

Цель работы – молекулярно-генетический анализ нуклеотидной последовательности гена *cyp51A* резистентных к азолам штаммов патогенных грибов рода *Aspergillus*.

Материалы и методы. Анализ нуклеотидных последовательностей *cyp51A*, представленных в базе данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), для различных патогенных видов *Aspergillus* spp. проводили с помощью программы VectorNTI Suite 8 (AlignX). Проверку специфичности выбранных олигонуклеотидов выполняли с использованием поисковой системы BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>). В настоящее время в нашем распоряжении имеются 6 резистентных штаммов *Aspergillus* spp.: *A. terreus* и *A.*

flavus – резистентные к вориконазолу, *A. niger* и *A. flavus* – к кетоконазолу, *A. flavus* и *A. calidoustus* – к вориконазолу и итраконазолу.

Результаты. При анализе нуклеотидной последовательности гена *cyp51A* патогенных видов *Aspergillus* spp. выявили высокие межиндивидуальные генетические вариации: известно около 40 точковых мутаций в *cyp51A*, но не все из них ассоциируют с возникновением резистентности. Кроме того, различные полиморфные варианты связывают с различными профилями резистентности. Так, перекрестную резистентность к итраконазолу и позаконазолу связывают с аминокислотными заменами в кодоне G54 *Cyp51A*, а увеличение МИК для всех азолов – с аминокислотными заменами в кодоне M220. В ходе работы были подобраны оптимальные последовательности праймеров для амплификации и секвенирования *cyp51A* *Aspergillus* spp.

Заключение. Разработка молекулярных подходов с прямым определением из образца является актуальной проблемой. Исследование мутаций *cyp51A* поможет выявить нуклеотидные замены, приводящие к снижению чувствительности к препаратам группы азолов.

While triazoles are the most widely used antimycotics in therapy, azole resistance is emerging problem. Azole resistance in *Aspergillus* was first described for *Aspergillus fumigatus* in 1997. The number of resistance isolates is progressively increasing during last decades.

Itraconazole resistance is common in developed countries (Canada, India, China and the United States are considered to be the leading countries). In most of the cases, resistance to itraconazole is concomitant with resistance to voriconazole and posaconazole. Multi-azole resistance increases mortality rate of patients with invasive aspergillosis to 88% in comparison with 30-50% mortality of patients infected by antimycotic-susceptible strains.

The main mechanism of azoles action is postulated to be inhibition of lanosterol demethylase required for ergosterol biosynthesis. Reduction of the susceptibility to azole is predominantly associated with mutations in *cyp51* gene, encoding lanosterol demethylase.

The aim of the study is a molecular genetic analysis of the *cyp51A* nucleotide sequence for azole-resistant pathogenic strains *Aspergillus* spp.

Materials and methods. The nucleotide sequences of pathogenic *Aspergillus* spp *cyp51A* were aligned with reference sequence from GenBank database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). Optimal oligonucleotides sequences were selected for amplification and sequencing of *Aspergillus* spp *cyp51A*. Specificity of the oligonucleotides was verified by BLAST algorithm (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>).

Results. To date, we obtained 6 resistant strains of *Aspergillus* spp: *A. terreus* and *A. flavus* resistant to voriconazole, *A. niger* and *A. flavus* resistant to ketoconazole, *A. flavus* and *A. calidoustus* resistant to voriconazole and itraconazole.

The nucleotide sequence analysis revealed high inter-individual genetic variation. There are about 40 identified point mutations in *cyp51A*, however not all of them are accounted for the drug-resistant phenotype. Furthermore, different polymorphic variants may correlate with different resistance profiles. Thus, cross-resistance to itraconazole and posaconazole is related to G54 amino acid substitutions in *Cyp51A*, whereas mutation M220 increases minimum inhibitory concentration (MIC) for all azoles.

Conclusion. *Aspergillus* species susceptibility has been intensively studied by standard microbiological methods. However, currently used culture tests are laborious and not sensitive enough. Therefore, implementation of modern molecular biology techniques may allow identification of antimycotics-resistant *Aspergillus* spp. directly from the sample. The study of the mutations in *cyp51A* will help to further characterize the nucleotide substitutions reducing azole susceptibility that may lead to development of original system for testing antimycotics-resistant *Aspergillus* spp.

СТАФИЛОКОККОВЫЕ БИОПЛЕНКИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОДЕРЖАНИЯ ЖЕЛЕЗА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

Леонов В.В.^{1,2}, Леонова Л.В.^{1,2}, Соколова Т.Н.¹, Дыдымов Н.А.^{1,2}

¹Ханты-Мансийская государственная медицинская академия; ²ООО «СибМедика», Ханты-Мансийск, Россия

BIOFILMS OF THE STAPHYLOCOCCI IN DEPEND FROM IRON CONCENTRATION IN SERUM BLOOD

Leonov V.V.^{1,2}, Leonova L.V.^{1,2}, Sokolova T.N.¹, Dydymov N.A.^{1,2}

¹Khanty-Mansiysk State Medical Academy; ²LLC «SibMedika», Khanty-Mansiysk, Russia

Стафилококки – одни из самых актуальных возбудителей оппортунистических инфекций, а их способность к формированию биопленок является важным фактором патогенности. Ведущую роль стафилококковым биопленкам отводят в развитии катетер-ассоциированных инфекций. В связи с этим актуально исследование структуры и свойств стафилококковых биопленок под действием сыворотки крови доноров с различным содержанием железа.

Цель работы – изучение влияния содержания железа в сыворотке крови доноров на состав биопленок *Staphylococcus aureus*.

Материалы и методы. Биопленки *S. aureus* 4844 (клинический изолят, выделенный из крови) и *S. aureus* 25923 ATCC (эталонный штамм) выращивали в течение 64 ч на стеклянных подложках в сыворотках крови человека. Использовали сыворотки крови доноров мужского пола в возрасте от 21 до 30 лет с 0 (I) группой крови Rh (+) с нормальным, избыточным и дефицитным содержанием железа. Выявление изменений в структуре биопленки осуществляли с помощью ИК-спектроскопии. ИК-спектры биопленок снимали в матрице бромида калия на спектрометрах «Spectrum One» с Фурье-преобразованием фирмы «Perkin Elmer».

Результаты и выводы. Провели сравнительный анализ ИК-спектров биопленок, выращенных в сыворотках крови с разным содержанием железа. Несмотря на сложность интерпретации ИК-спектра биопленок, можно выделить несколько характеристических полос поглощения – 1580-1400 см⁻¹ (валентные колебания карбоксильных групп – COO⁻) и 1200-900 см⁻¹ (валентные колебания полисахаридных фосфатных групп – PO₂⁻). По мере увеличения концентрации железа в сыворотке наблюдали возрастание интенсивности полос поглощения карбоксильных групп 1400 см⁻¹ и двух полос поглощения фосфатных групп в области 1210-983 см⁻¹. Таким образом, по данным ИК-спектров, повышение концентрации железа в сыворотке стимулирует образование наружных экзополисахаридов, содержащих ионогенные группы, увеличивающие отрицательный заряд микробной клетки. Очевидно, что в этой ситуации сывороточное железо будет стимулировать биопленкообразование на положительно заряженных поверхностях, например, катетерах, погруженных в водный раствор.

АНТИМИКОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ СФАГНОВОГО МХА

Леонова Л.В.^{1,3}, Отшамов Д.Ю.², Шелестюк В.В.^{1,3}, Леонов В.В.^{1,3}, Ананьина И.В.², Соколова Т.Н.¹

¹Ханты-Мансийская государственная медицинская академия; ²Югорский государственный университет; ³ООО «СибМедика», Ханты-Мансийск, Россия

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF THE EXTRACTS OF SPHAGNUM MOSS

Leonova L.V.^{1,3}, Otshamov D.U.², Shelestuk V.V.^{1,3}, Leonov V.V.^{1,3}, Ananyina I.V.², Sokolova T.N.¹

¹Khanty-Mansiysk State Medical Academy; ²Ugra State University; ³LLC «SibMedika», Khanty-Mansiysk, Russia

Ежегодно во всем мире проводят исследования по созданию новых антимикотиков для лечения оппортунистических микозов. Выполнение подобных исследований и разработка новых лекарственных форм на основе альтернативных препаратов являются весьма актуальными. Одним из таких средств может стать препарат на основе мха сфагнума (*Sphagnum*), широко распространенного на территории всей Сибири.

Цель данной работы – определение антимикотической активности бензилового экстракта сфагнового мха по отношению к клиническим штаммам *Candida albicans*. Для исследования использовали выделенные от больных ОКБ г. Ханты-Мансийска штаммы *C. albicans*, выращенные на бульоне Шедлера. Протестировано 7 экстрактов из мха сфагнума, произрастающего в Сургутском и Нижневартовском районах Ханты-Мансийского автономного округа – Югры. Экстракцию проводили растворами этилового и бензилового спиртов. Наличие антимикотической активности определяли качественно диско-диффузионным методом. Количественное определение антимикотической активности выполняли методом серийных разведений по значению удельной скорости роста штамма на приборе Multiscan FC.

Результаты и выводы. Наиболее выраженную антимикотическую активность имели бензиловые экстракты, полученные из сфагнового мха, произрастающего на территории Сургутского района. При добавлении 0,001-0,01 об% всех протестированных экстрактов удельная скорость роста *C. albicans* уменьшалась по сравнению с контролем в 0,8-1,5 раз. Добавление экстрактов в концентрации 0,1 об% полностью подавляло рост и размножение всех штаммов *C. albicans*.

Every year around the world are conducting research on the creation of new antifungals to treat opportunistic fungal infections. Execution of such research and development of new medicines based on alternative drugs are highly relevant. One of such ways can be a drug prepared from sphagnum moss (*Sphagnum*) widespread in Siberia.

Purpose of this work – the definition of antimycotic activity of the benzyl alcohol extract of sphagnum moss in respect to the clinical strains of *Candida albicans*. The strains of *C. albicans* isolated from patients District Hospital in Khanty-Mansiysk and grown in Schaedler broth were used for the research. 7 extracts from sphagnum moss growing in the Surgut and Nizhnevartovsk regions of Khanty-Mansiysk Autonomous Okrug – Yugra were tested. Extraction was carried out with solutions of ethanol and benzyl alcohol. The presence of antimycotic activity was determined qualitatively by disk-diffusion method. Quantitative determination of antimycotic activity was performed by serial dilution on the value of the specific growth rate of the strain on the device Multiscan FC.

Results and conclusions. The most pronounced antimycotic activity had benzyl alcohol extracts from *Sphagnum* growing on the territory of the Surgut district. When adding 0,001-0,010 vol % of all the tested extracts the specific growth rate of *C. albicans* was decreased compared to the control at 0,8-1,5 times. Adding of extracts at the concentration of 0,1% completely inhibited the growth and reproduction of all *C. albicans* strains.

ЧАСТОТА АССОЦИАЦИЙ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА С ПАТОГЕННЫМИ И УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА

Летяева О.И., Абрамовских О.С., Зиганшин О.Р., Прокопьев Д.С.

Южно-уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

THE INCIDENCE OF ASSOCIATION OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS AND PATHOGENIC AND CONDITIONALLY PATHOGENIC MICROORGANISMS IN WOMEN OF REPRODUCTIVE- AGED

Letyaeva O.I., Abramovskich O.S., Ziganshin O.R., Prokopiev D.S. South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

Цель – изучение частоты ассоциации вируса папилломы человека (ВПЧ) с патогенными и условно-патогенными микроорганизмами у женщин репродуктивного возраста.

Материалы и методы. В период с 2009 по 2014 гг. провели скрининг 1817 пациенток в возрасте от 18 до 43 лет (средний возраст – 26,2±0,6 лет). Материалом для выделения и последующей амплификации ДНК были соскобы эпителия цервикального канала, взятые одноразовыми цитощетками в 1 фазу менструального цикла. Для идентификации бактериально-микотической биоты применяли технологию «Флороценоз». Исследование проводили методом ПЦР в режиме реального времени. Количество ДНК искомого материала в образце определяли с помощью программного обеспечения и выражали в геном-

эквивалентах (ГЭ), которое пропорционально количеству микроорганизмов. Для проведения амплификации и детекции ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВКР), вируса простого герпеса (ВПГ) I и II, цитомегаловируса (ЦМВ) использовали соответствующие наборы реагентов. Анализ данных осуществляли автоматически с помощью программы «AmpliSens FRT HR HPV Genotype Results Matrix.xls».

Результаты. ВПЧ обнаружили у 719 из всех обследованных пациенток (39,5%). У 164 (8,9%) больных в ассоциации с ВПЧ выявляли в различном сочетании: *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Candida albicans*. У 128 (17,8%) женщин наблюдали сочетание ВПЧ с *U. urealyticum*, *M. hominis*, у 213 (29,6%) – с *C. albicans*, у 198 (27,5%) выявили также *Gardnerella vaginalis* и /или *Atopobium vaginae*, у 21 (2,9%) – с ВПГ-1,2, у 17 (2,36%) – с ЦМВ. Лишь у 11% пациенток ВПЧ отмечали как моноинфекцию.

Вывод. ВПЧ ВКР широко распространен среди женщин репродуктивного возраста, в 89% случаев представлен в ассоциации с другими патогенными и условно-патогенными микроорганизмами, что служит показателем необходимости комплексного обследования пациенток.

Aim - to study the incidence of human papillomavirus and pathogenic and conditionally pathogenic microorganisms association in women of reproductive-aged.

Methods. In the period from 2009 to 2014 years 1817 women patients aged from 18 to 43 years (mean age - 26,2 ± 0,6 years) were screened. The material for the isolation of DNA and subsequent amplification was epithelial cervical scrapings taken by disposable cytobrushing in first phase of the menstrual cycle. For the identification of bacterial and mycotic biota "Florotsenoz" technology was applied. The study was performed by PCR in real time. The amount of DNA in a sample of the studied material was determined using the software, and expressed as genome equivalents units (GEU), which were proportional to the number of microorganisms. For the amplification and detection of HPV of high carcinogenic risk (HCR), herpes virus simplex (HSV) I and II, the cytomegalovirus (CMV) the appropriate reagent kits were used. Data analysis was carried out automatically by the program «AmpliSens FRT HR HPV Genotype Results Matrix.xls»

Results. HPV was found in 719 of all studied patients (39.5%). In 164 (22, 8%) patients HPV was found in various combinations: *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Candida albicans*. In 128 (17.8%) women HPV was found in combination with *U. urealyticum*, *M. hominis*, in 213 (29.6%) - with *C. albicans*, in 198 (27.5%) *Gardnerella vaginalis* and / or *Atopobium vaginae* were also identified, in 21 (2.9%) - with HSV-1,2, in 17 (2.36%) - with CMV. Only 11% of patients with HPV were diagnosed as having monoinfected.

Conclusion. HCR HPV is widespread among women of reproductive age, in 89% of cases it is presented in association with other pathogens and opportunistic microorganisms makes it necessary to examine such patients using a complex approach.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МИКРОСПОРИИ В Г. СУМЫ

Липовская В.В.¹, Крамар С.К.²

¹Сумский государственный университет, ² Сумской областной клинический кожно-венерологический диспансер, Сумы, Украина

EPIDEMIOLOGICAL FEATURES OF MICROSPORIA IN SUMY

Lipovskaia V.V.¹, Kramar S.K.²

¹Sumy State University, ²Sumy Regional Clinical Dermatovenerologic Dispensary, Sumy, Ukraine

Микроспория – наиболее распространенное заболевание микотической этиологии населения Украины и занимает второе место по частоте инфицирования после микозов стоп.

Цель – мониторинг заболеваемости микроспорией в 2010-2014 гг. для изучения эпидемиологической ситуации по заболеваемости населения г. Сумы.

Материалы и методы. На основании отчетных и статистических материалов бактериологического отдела клинико-диагностической лаборатории Сумского областного клинического кожно-венерологического диспансера были изучены показатели и динамика заболеваемости микроспорией населения г. Сумы за 5 лет (2010-2014 гг.).

Результаты. В 2010 г., по сравнению с 2009 г., заболеваемость

микроспорией снизилась на 13,4% и составила 16,02 на 100000 населения (выявили, соответственно, 187 и 218 случаев заболевания). Напротив, начиная с 2011 г., отмечали рост заболеваемости микроспорией. Уже в 2011 г. заболеваемость возросла на 19,5% и составила 19,9 на 100000 населения (231 случай). Количество заболевших в 2012 году практически не изменилось (229 случаев). Однако уже в последующие годы продолжался неравномерный рост заболеваемости. Так, в 2013 г. выявили 257 случаев заболевания микроспорией – 22,6 на 100000 населения и, соответственно, рост на 14,2%. В 2014 г. рост заболеваемости продолжался (на 5,3% по сравнению с 2013 г.) и составил 23,8 на 100000 населения (267 случаев по сравнению с 257 случаями в 2013 г.). В начале 2015 г. также наблюдали более высокие показатели по сравнению с соответствующим периодом 2014 г. При сравнении показателей заболеваемости микроспорией в 2014 г., по сравнению с 2010 г., установили рост заболеваемости в 1,8 раза.

В результате мониторинга заболеваемости микроспорией за анализируемый период (2010-2014 гг.) отмечали волнообразное возрастание заболеваемости населения г. Сумы.

Выводы. За последние 5 лет имеет место рост заболеваемости микроспорией в г. Сумы. Учитывая значительный уровень заболеваемости микроспорией и высокие показатели заболеваемости населения Украины микозами, необходимо дальнейшее совершенствование мероприятий по ее снижению.

Microsporia is the most common disease of mycotic etiology of Ukraine's population and it ranks second in the frequency of infection after fungal infections of the feet.

Purpose – monitoring the incidence of microsporia from 2010-2014 for the study of epidemiologic morbidity of the population of Sumy.

Materials and methods. On the basis of accounting and statistics of bacteriological clinical diagnostic laboratory Sumy Regional Clinical Dermatovenerologic Dispensary. We studied the indicators and the dynamics of the population morbidity of microsporia of Sumy for 5 years (2010-2014).

Results. In 2010, compared to 2009, the incidence of microsporia decreased by 13.4% and amounted to 16.02 per 100,000 populations (identified, in 187 and 218 cases respectively). On the contrary, since 2011, we noted an increase in the incidence of microsporia. Already in 2011, the incidence has increased by 19.5% and amounted to 19.9 per 100,000 populations (231 cases). The number of cases in 2012 remained virtually unchanged (229 cases). However, in subsequent year's uneven incidence continued. So, in 2013 we revealed 257 cases of microsporia – 22.6 per 100,000 populations, respectively, an increase of 14.2%. In 2014, increase of the incidence continued (by 5.3% compared to 2013) and amounted to 23.8 per 100,000 population (267 cases compared with 257 cases in 2013). At the beginning of 2015 we also observed higher rates in parameters and compared it with the same period in 2014. When comparing the parameters of microsporia morbidity in 2014, with that of 2010, we established that the incidence has increased by the multiple of 1.8 times.

As a result of monitoring the microsporia incidence of the analyzed period (2010-2014) we noted an undulating increase of the morbidity on the population of Sumy.

Conclusions. Over the last 5 years there has been an increase in the incidence of microsporia in Sumy. Given the substantial level of microsporia morbidity and high morbidity fungal infections on the population of Ukraine, there is a need for further improvement in measures taken to reduce it.

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ НА ВИРУЛЕНТНЫЕ СВОЙСТВА CANDIDA ALBICANS

Лисовская С.А., Халдеева Е.В., Глушко Н.И.

Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии, Казань, Россия

INFLUENCE OF MOULD FUNGI EXTRACTS ON VIRULENCE OF CANDIDA ALBICANS

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

Kazan research institute of epidemiology and microbiology, Kazan, Russia

В настоящее время поверхностные микозы, вызванные *Candida albicans*, являются наиболее распространенной формой грибковых инфекций, что связано с возрастанием числа иммунокомпрометированных людей. Известно, что инфекционные заболевания обычно

возникают и развиваются в условиях микробных ассоциаций. При этом, как правило, часто рассматривают ассоциативные взаимодействия микромицетов с другими микроорганизмами, например, бактериями. Однако все чаще в культуральных посевах с клинического материала, помимо уже известных возбудителей микозов, встречаются различные виды мицелиальных грибов.

Цель исследования – оценка характера взаимодействия *in vitro* *C. albicans* с часто выявляющимися в микробиологических посевах *Penicillium chrysogenum*.

Материалы и методы. В работе использовали музейный штамм *P. chrysogenum* и штаммы *C. albicans*, выделенные от больных с клинически подтвержденным диагнозом «кандидоз кожи», двух групп – выявленные в микст и моно-культурах. Изучение проводили микроскопическими и культуральными методами.

Результаты и их обсуждение. По результатам обследования пациентов с диагнозом «микоз кожи», обратившихся в лабораторию микологии КНИИЭМ за период 2013-2014 г.г., показано, что в 24% случаях вместе с *C. albicans* выделяли плесневые грибы, причем наиболее часто – *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*. Такую картину чаще наблюдали на фоне длительного поражения кожи.

При исследовании вирулентной активности штаммов *C. albicans* выявили статистически достоверные отличия между группами штаммов, выделенных в микст и моно-культурах. Аггезия штаммов *C. albicans*, выделенных из микст-биоценоза с мицелиальными грибами, превышала средний уровень аггезии штаммов из монокультур почти в два раза ($15,6 \pm 0,12\%$) и ($8,3 \pm 1,3\%$). При последующем совместном культивировании штаммов *C. albicans* из монокультур с экстрактом гриба *Penicillium chrysogenum* установили наличие стимулирующего влияния микромицета как на адгезивные свойства штаммов *C. albicans*, так и на формирование псевдомицелия. Наибольший эффект достигли при культивировании штаммов с объемом экстракта 0,25 мл. Кроме того, методом перпендикулярных штриховых посевов и при посеве *C. albicans* и *P. chrysogenum* в смешанном газоне на плотных средах, показано, что на протяжении всего периода наблюдений количество жизнеспособных грибов равномерно возрастало.

Выводы. Есть основания предполагать, что стимулирующие действие, оказываемое плесневыми грибами на вирулентную активность штаммов *C. albicans*, может влиять на отягощение течения заболевания и своеобразие его клинических проявлений.

At the present time, the superficial mycoses caused by *Candida albicans* are widespread of fungal infections in immunocompromised individuals. It is known, that infectious diseases usually arise and develop due to microbic associations and thus, mainly considered as associative interactions of micromycetes with other microorganisms, such as bacteria. However, besides well-known causative agents of mycoses, other mycelial fungal strains could be cultured in microbiological laboratory from clinical samples.

Goal. *In vitro* assessment of the interactions between *C. albicans* and *Penicillium chrysogenum* frequently detected in microbiological cultures.

Materials and methods. The *P. chrysogenum* strain was obtained from the fungal collection. *C. albicans* strains were obtained from patients with clinically confirmed diagnosis of candidosis of skin. Two groups of fungi were obtained from mixed and monocultures. Study was carried out by microscopic and cultural methods.

Results and discussion. During 2013-2014 the examination of patients with the diagnosis of the skin candidosis revealed 24% cases where the mold fungi were detected along with *C. albicans*, mostly *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* and were more frequent during the long-term skin damage from infection. Statistical analyses found significant differences between *C. albicans* strains obtained from mixed and monocultures when virulent activity was tested. The adhesion of *C. albicans* strains extracted from a mixed biocenosis with mycelial fungi about two-fold exceeded the average level of adhesion of strains from monocultures - ($15,6 \pm 0,12\%$) and ($8,3 \pm 1,3\%$). The joint cultivation of *C. albicans* strains from monocultures and *Penicillium chrysogenum* extract showed the stimulating effect of this mold both on adhesive properties of *C. albicans* strains, and on the formation of pseudomycelium. The greatest effect was observed when strains were cultivated with 0,25 ml of the extract. Moreover, both joint seeding of *C. albicans* and *P. chrysogenum* on agar media and the perpendicular shaped seeding method showed that quantity of viable fungi evenly increased.

Conclusions. We assume that the stimulating effect on virulent activity caused by mold fungi can also impact the clinical course of disease and its clinical manifestations.

ВЛИЯНИЕ МЕТАБОЛИТОВ ФУНГАЛЬНОЙ И БАКТЕРИАЛЬНОЙ МИКРОБИОТЫ НА ЭКСПРЕССИЮ TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ЭПИТЕЛИОЦИТАМИ ПОЛОСТИ РТА

Лукова О.А., Александрова Н.А. Кропотов В.С., Махрова Т.В., Заславская М.И.

Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород, Россия

INFLUENCE OF FUNGAL AND BACTERIAL METABOLITES ON TOLL-LIKE RECEPTOR EXPRESSION BY ORAL EPITHELIAL CELLS

Lukova O.A., Alexandrova N.A., Kropotov V.S., Makhrova T.V., Zaslavskaja M.I.

Nizhny Novgorod Medical State Academy, Nizhny Novgorod, Russia

Представители нормальной микробиоты человека могут обладать различным патогенным потенциалом, который реализуется при взаимоотношениях с клетками слизистых оболочек.

Цель – исследовать способность различных видов грибов рода *Candida* и бактерий – представителей нормобиоты человека влиять на экспрессию Toll-подобных рецепторов буккальными (щечными) эпителиоцитами.

Материалы и методы. Культуры *Candida albicans*, *C. krusei* и *C. glabrata* выращивали на жидкой среде Сабуро, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* и *Escherichia coli* – на мясо-пептонном бульоне (24 ч, 37 °С). Супернатанты отделяли от микробных клеток центрифугированием. Пул буккальных эпителиоцитов получали от здоровых доноров. Эпителиальные клетки ресуспендировали, инкубировали (30 мин, 37 °С) с микробными метаболитами (отдельные пробы). Контролем служили интактные эпителиоциты. К 100 мкл эпителиальных клеток добавляли 10 мкл смеси антител (5 мкл CD282 и 5мкл CD284, BD Pharmingen, USA) для идентификации TLR-2 и TLR-4, выдерживали в течение 15 минут. Идентифицировали экспрессию toll-подобных рецепторов на проточном цитофлюориметре (BD FACS Canto II System with Fluidics Cart, USA). Полученные результаты выражали в процентах как отношение числа клеток, презентующих на своей поверхности TLR-2 или TLR-4 к общему числу витальных клеток в популяции.

Результаты. Метаболиты различных видов *Candida* spp. увеличивали число эпителиальных клеток, способных экспрессировать TLR-2. Напротив, контакт эпителиальных клеток с метаболитами *S. aureus*, *E. faecium* и *E. coli* приводил к значительному снижению количества эпителиоцитов, экспрессирующих TLR-2 молекулы ($p < 0,05$). Ту же закономерность наблюдали и при оценке количества TLR-4 – позитивных клеток.

Заключение. Таким образом, представители грибковой и бактериальной микробиоты могут использовать различные пути для регуляции экспрессии Toll-подобных рецепторов и для взаимодействия с эффекторами иммунитета слизистых оболочек.

The representatives of a normal human microbiota can possess different pathogenic potential which realized during its contact with mucosal cells.

The purpose was to investigate of some *Candida* and bacterial species (representatives of a human normobiota) to influence on toll-like receptor expression by buccal epithelial cells.

Materials and methods. The pure cultures of *Candida albicans*, *C. krusei* and *C. glabrata* were grown in Sabouraud liquid medium, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, and *Escherichia coli* were cultured in peptone broth (24 h, 37°C). Supernatants were separated from microbial cells by centrifugation. The pool of buccal cells was obtained from healthy donors. Epithelial cells were suspended and incubated (30 min, 37°C) with microbial metabolites (in separated tests). The control group consisted of intact epithelial cells. 10 µl of antibody cocktail (5µl CD282 and 5µl CD284, BD Pharmingen) was added to 100 µl buccal cells (10^6 cell/ml) and incubated (15 min) for detection TLR-2 and TLR-4. The analysis of TLR-2 and TLR-4 mucosal cell expression has been executed by Flow Cytometer (BD FACS Canto II System, USA). Results were expressed as the percentage ratio of the number of cells presenting on their surface TLR-2 or TLR-4 to the total number of vital cells in the population.

Results. Metabolites of various *Candida* spp. increased the number of buccal epithelial cells which can express TLR-2. On the contrary, the contact of epithelial cells with metabolites of *S. aureus*, *E. faecium* or *E.*

coli resulted in significant decrease amount of epitheliocytes expressing TLR-2 ($p < 0.05$). The same regularity was also observed in research of TLR-4- positive cells.

Conclusion. Thus, representatives of fungal and bacterial microbiota can use different pathways for regulation of toll-like receptors expression and interaction with mucosal immunity effectors.

СЕЛЕКЦИЯ ШТАММОВ *LACTOBACILLUS SPP.* ПРИОБРЕТЕНИЕМ ИМИ ОКСАЛАТДЕГРАДИРУЮЩИХ СВОЙСТВ

Лукьяненко Т.В., Осолодченко Т.П., Андреева И.Д.

Институт микробиологии и иммунологии им. И. И. Мечникова Национальной академии медицинских наук Украины, Харьков, Украина

SELECTION OF STRAINS *LACTOBACILLUS SPP.* WITH ACQUIRING OXALATE DEGRADING PROPERTIES

Lukyanyenko T.V., Osolodchenko T.P., Andreieva I.D.

Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Известны штаммы бактерий, принимающих активное участие в деградации оксалатов – *Oxalobacter formigenes*, *Bacillus spp.*, *Lactobacillus plantarum* CS. В настоящее время существует необходимость в расширении арсенала оксалатдеградирующих штаммов (ОДШ), пригодных для приготовления на их основе фармацевтических препаратов. В научной литературе мы не обнаружили работ, посвященных селекции не только промышленных штаммов (ПШ), но и «диких».

Цель – селекция ПШ *L. acidophilus* и *L. fermenti* с получением ОДШ на твердой питательной среде с разной концентрацией солей щавелевой кислоты.

Материалы и методы. Объект исследования – деструкция оксалатов тест-штаммами на серии твердых питательных сред. Предмет исследования – ПШ *L. acidophilus*, *L. fermenti*, не редуцирующие оксалаты и ОДШ *L. acidophilus*, полученный из клинического материала (*L. acidophilus* №26). Методы исследований – бактериологические (культивирование в анаэробных условиях в течение 72 часов при 38 °С, pH 5,8-6,9; традиционная селекция), математико-статистические. Контроль – на среде MRS (Man-Rogosa-Sharpe).

Результаты. Методом традиционной селекции ПШ *L. acidophilus*, *L. fermenti* модифицированы их свойства с приобретением оксалатдеградирующих свойств (с сохраненными культурально-морфологическими и биохимическими свойствами). Отмечали рост исследуемых микроорганизмов на средах с низкой концентрацией оксалатов. При концентрации свыше 0,003 г/мл рост ПШ *L. acidophilus*, *L. fermenti* не наблюдали. При данной концентрации скудный рост получен в двух пассажах для *L. acidophilus* № 26.

Выводы. С помощью методов традиционной селекции ПШ *L. acidophilus* и *L. fermenti* модифицированы с приобретением свойств ОДШ. Дальнейшее изучение модифицированных штаммов *L. acidophilus* и *L. fermenti* актуально и перспективно в плане создания на их основе пробиотиков для лечения и профилактики гипероксалурии.

There are bacterial strains that are known to actively participate in oxalate degradation – *Oxalobacter formigenes*, *Bacillus spp.*, *Lactobacillus plantarum* CS. At present, it is necessary to broaden the range of oxalate degrading strains (ODS) that are suitable for development of pharmaceutical preparations based thereof. We have not discovered any studies devoted to the selection of either industrial (IS) or “wild” strains with such properties in the scientific literature.

The aim of the study – the selection of IS of *L. acidophilus* and *L. fermenti* along with acquiring of ODS on the solid culture medium with different concentrations of oxalic acid salts.

Materials and methods. The objective of the study was the destruction of oxalates by test strains on the series of solid culture mediums. The study subject – IS of *L. acidophilus*, *L. fermenti* that do not reduce oxalates and ODS of *L. Acidophilus* isolated from clinical material (*L. acidophilus* № 26). The methods applied in the study – bacteriological (cultivation in anaerobic conditions for 72 hours at 38 °С, pH 5,8-6,9; traditional selection); mathematical statistic. Control was performed on the MRS (Man-Rogosa-Sharpe) medium.

Results. The properties of IS of *L. acidophilus* and *L. fermenti* were modified by traditional selection methods and oxalate-degrading properties were acquired (the cultural, morphological and biochemical properties of the species were retained). The growth of the studied microorganisms on mediums with low oxalate concentration was observed. At concentrations higher than 0,003 g/ml the growth was not observed in *L. acidophilus* and *L. fermenti* IS. At this concentration meager growth was obtained in two passages for *L. acidophilus* № 26.

Conclusion. With the help of traditional selection methods the properties of IS of *L. acidophilus* and *L. fermenti* were modified which resulted in acquiring of oxalate degrading properties. The further study of modified strains of *L. acidophilus* and *L. fermenti* has relevance and perspective in the light of development of probiotics for treatment and prophylaxis of hyperoxaluria based thereof.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ *CANDIDA SPP.* В БИОСУБСТРАТАХ ОТ БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ

Мавлянова Ш.З., Есионова Е.В.

Республиканский специализированный научно-практический центр дерматологии и венерологии, Ташкент, Узбекистан

THE DETERMINATION OF *CANDIDA SPP.* AT BIOSUBSTRATES FROM PATIENTS WITH ATOPIC DERMATITIS

Mavlyanova Sh., Esionova E.

Republic Research Center of Dermatology and Venereology, Department of Dermatology. Tashkent, Uzbekistan

Candida spp. – распространенные комменсалы организма, обладающие высокой аллергизирующей способностью. Продукты их метаболизма имеют значение в развитии атопического дерматита (АД), вызывая сенсибилизацию к антигенам данного микроорганизма. Длительная персистенция *Candida spp.* способна утяжелять течение основного заболевания.

Цель исследования – выявление *Candida spp.* в биосубстратах (слизистая оболочка полости рта, кожные чешуйки, содержимое кишечника) больных атопическим дерматитом.

Материалы и методы. Обследовали 135 больных АД (59 мужчин, 76 женщин) в возрасте от 10 до 65 лет и 36 человек относительно здоровых лиц в качестве контрольной группы. Кожно-патологический процесс носил распространенный, симметричный и воспалительный характер. Среди клинических форм эритематозно-сквамозную составили 19 больных, эритематозно-сквамозную форму с лихенификацией – 21, экссудативную – 27, лихеноидную – 33, пруригнозную – 35.

Всем больным проведено микологическое исследование биосубстратов (отделяемое слизистой оболочки полости рта, кишечника, кожные чешуйки) с посевом на среду Сабуро.

Результаты. Среди 135 пациентов у 93 (68,8%) в биосубстратах обнаружили *Candida spp.* Из них у 2 (2%) больных грибы выделяли с кожных чешуек, у 37 (39,8%) – со слизистой оболочки полости рта, у 54 (58,1%) – из кишечника. Тогда как в контрольной группе грибы отмечали у 12 человек: со слизистой оболочки полости рта – у 5 (41%) и в кишечнике – у 7 (58,3%).

Candida spp., в зависимости от клинической формы АД, чаще выявляли у пациентов с лихеноидной и пруригнозной формами – у 23 (24,8%) и 27 (29,1%), а с эритематозно-сквамозной и экссудативной формами – у 12 (17%) и 14 (15,1%) соответственно.

При анализе обсемененности *Candida spp.* со слизистой оболочки полости рта отмечали высокий рост у больных с эритематозно-сквамозной формой с лихенификацией (70,6%), с эритематозно-сквамозной формой (58,3%) и с экссудативной (57,1%), а у больных с лихеноидной и пруригнозной формами рост был более низким – 26,1% и 18,5% соответственно.

В кишечнике больных АД *Candida spp.* чаще высевали при лихеноидной (73,9%) и пруригнозной формах (81,5%), что составило 5400 ± 93,52 КОЕ/мл и 4800 ± 52,08 КОЕ/мл соответственно, а при эритематозно-сквамозной форме – (41,7%) 2900 ± 35,4 КОЕ/мл, эритематозно-сквамозной с лихенификацией – (29,4%) 4200 ± 40,64 КОЕ/мл, экссудативной – (42,9%) 2700 ± 44,57 КОЕ/мл.

Выводы. Полученные данные являются показателем повышенного роста *Candida spp.* в кишечнике у больных с лихеноидной и пруригнозной формами, а слизистой оболочки полости рта – с эрите-

матозно-сквамозной и эритематозно-сквамозной формой с лихенификацией. Данные служат основанием для разработки дифференциального подхода к назначению антимикотических средств.

Candida spp. are widespread commensals and have high allergic ability. Products of their metabolism have meaning in the development of atopic dermatitis, causing sensitization to antigens of this microorganism. Long persistence of *Candida* spp. can make process of main disease severity.

The aim of our study is the definition of *Candida* spp. in biosubstrats (oral mucosae, skin squamas, intestinal mass).

Materials and methods. 135 patients with AD (59 mails, 76 females) from 10 till 65 ages and 36 healthy people as a control group were examined. All patients have disease from childhood.

Skin pathological process has widespread, symmetrical and inflammatory character. 19 patients have erythema-squamosal form, 21 patients – erythema-squamosal form with lichenification, 27 patients – exudative form, 33 patients – lichenoid form, 35 patients – pruriginosal form. Microbiological investigation on Sabouraud medium was done for all patients.

Results. Among 135 patients 93 (68,8%) ones have fungi, *Candida* spp. were found in their biosubstrats. In 2 (2%) patients fungi were found from squama, in 37 (39,8%) patients – from oral mucosa, in 54 (58,1%) – from intestinal. Among control group (36) fungi were found in 12 people: from oral mucosa – in 5 (41%), from intestinal – in 7 (58,3%).

Candida spp. were found in patients with lichenoid and pruriginosal forms in majority – 23 (24,8%) and 27 (29,1%), but in patients with erythema-squamosal and exudative forms – 12 (17%) and 14 (15,1%).

From oral mucosa of patients with AD *Candida* spp. were found in ones with erythema-squamosal with lichenification – 70,6%, with erythema-squamosal form – 58,3% in majority and with exudative form – 57,1%, but in patients with lichenoid and pruriginosal forms growth of fungi was lower 26,1 and 18,5%.

Candida spp. were found in patients with lichenoid (73,9%) and pruriginosal (81,5%) forms in majority, the data was 5400 ± 93,52 colonies in ml and 4800 ± 52,08 colonies in ml and in patients with erythema-squamosal – (41,7%) 2900 ± 35,4 colonies in ml, erythema-squamosal with lichenification – (29,4%) 4200 ± 40,64 colonies in ml and exudative form – (42,9%) 2700 ± 44,57 colonies ml.

Conclusions: received data of mycological investigations of biosubstrats due to clinical forms was shown the high growth of *Candida* spp. in intestinal of patients with lichenoid and pruriginosal forms. But the high contamination of *Candida* spp. was on oral mucosa in patients with erythema-squamosal with lichenification and erythema-squamosal forms. The data is a basic for development of differential giving of antimycotical remedies.

ОПТИМАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К ТЕРАПИИ КАНДИДОЗОВ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА У ИММУНОКОМПРОМЕТИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ

Мавлянова Ш.З., Тилавбердыев Ш.А., Исмагилов А.И.

Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр дерматологии и венерологии МЗ РУз, Ташкент, Узбекистан

OPTIMUM APPROACHES TO THERAPY OF CANDIDOSIS OF ORAL MUCOSA IN IMMUNOCOMPROMETIVE PATIENTS

Mavlyanova Sh.Z., Tilavberdiev Sh.A., Ismagilov A.I.

Republican specialized scientific-practical medical center of dermatology and venereology of MH RUZ, Tashkent, Uzbekistan

В последние десятилетия происходит устойчивое возрастание частоты оппортунистических грибковых инфекций у иммунокомпromетированных больных (Баранцевич Е.П., Караев З.О., 1992; Клишко Н.Н., 1999; Баранцевич Е.П. и др., 2000; Елинов Н.П., 2001). Оппортунистические микологические инфекции часто вызывают рецидивирующее течение основного заболевания, приводят к инвалидизации (Елинов Н.П., 2000). По данным Gotzinger P.C. et al. (2000), Клишко Н.Н. и соавторов (2001), летальность при системных микотических осложнениях составляет 13%, а в группах больных высокого риска (онкогематологические заболевания, недоношенные дети) достигает 30-73%.

Цель исследования – оптимизация методов лечения кандидоза слизистой оболочки полости рта у иммунокомпromетированных больных с учетом микологического и иммунологического статуса организма.

Материал и методы. Обследовано 115 иммунокомпromетированных больных в возрасте от 14 до 74 лет: 75 (65,2%) – с различными клиническими формами гемобластоза, 31 (27,0%) – с акантолитической пузырчаткой и 9 (7,8%) – с лимфомой кожи. Всем пациентам выполняли клинические, микологические и иммунологические методы исследования.

Результаты. У иммунокомпromетированных больных кандидоз полости рта в 73,2% случаев протекает в виде инвазивной псевдомембранозной (53,6%) и эрозивно-язвенной (19,6%) форм. Основными возбудителями кандидоза слизистой оболочки полости рта были *C. tropicalis* (42,3%), *C. albicans* (31,9%) и *C. torulopsis* (12,4%). Полученные культуры *Candida* spp. были высокочувствительными к флуконазолу, кетоконазолу, амфотерицину В, среднечувствительными – к нистатину и слабочувствительными – к флюорцитозину (фторцитозину).

Развитие инвазивной формы кандидоза полости рта обусловлено снижением эффекторной функции секреторного иммуноглобулина А в биосубстратах слизистой оболочки на фоне дисбаланса активности провоспалительных (ИЛ-1β, ФНО-α) и противовоспалительных (ИЛ-4) цитокинов.

Разработан комплексный метод лечения кандидоза слизистой полости рта у иммунокомпromетированных больных, включающий в лечение антимикотический препарат «Флуконазол» и иммунокорригирующий препарат «Человеческий лейкоцитарный интерферон», которые оказывают положительный терапевтический эффект, способствуют санации слизистой оболочки полости рта от грибковой инфекции и восстанавливают выявленные нарушения в цитокиновом статусе и неспецифической иммунной защите организма.

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ СЕБОРЕЙНЫМ ДЕРМАТИТОМ

Мавлянова Ш.З., Яхшиева М.Ф., Исмагилов А.И., Шукуров И.Б., Мавлянова З.А.

Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр дерматологии и венерологии МЗ РУз, Бухарский Государственный медицинский институт, Ташкент, Узбекистан

IMPROVING OF THERAPY METHODS IN PATIENTS WITH SEBORRHEIC DERMATITIS

Mavlyanova Sh.Z., Jakhshieva M.F., Ismagilov A.I., Shukurov I.B., Mavlyanova Z.A.

Republican specialized scientific-practical medical center of dermatology and venereology of MH RUZ, Bukhara State Medical Institute, Tashkent, Uzbekistan

Цель исследования – совершенствование методов лечения у больных себорейным дерматитом с учетом иммунологического и микробиологического статуса организма.

Материалы и методы. Обследовано 32 больных в возрасте от 14 до 65 лет; лиц мужского пола – 18, женского – 14. У всех пациентов проводили клинические, микробиологические и иммунологические методы исследования.

Результаты. При изучении клинического течения себорейного дерматита (СД) выявили, что давность заболевания у 9 больных составила до 1 года, у 19 – от 1 года до 5 лет и у 4 – более 5 лет. Соотно-патологический процесс характеризовался гиперемией, инфильтрацией кожи в очагах поражения по типу «молочной корки», отрубевидным шелушением и располагался только на коже волосистой части головы – у 17 пациентов, на коже туловища и волосистой части головы – у 9 и на коже волосистой части головы и лица – у 6. Степень тяжести: у 5 (15,6%) человек – легкая, у 21 (65,6%) – средняя и у 6 (18,7%) – тяжелая. При иммунологических исследованиях отмечали, что у больных СД в крови имел место дисбаланс цитокинового статуса, выражающийся дефицитом ИЛ-4 и ФНО-α. Снижение уровня в крови ИЛ-4 и ФНО-α отражало развитие несостоятельности системы защиты организма. Эти изменения способствуют развитию благоприятной среды на коже у больных СД для размножения патогенных микроорганизмов, в частности, представителей семейства *Microcaccaceae* и *Malassezia*. Кроме того, установили снижение уров-

ней выработки ИЛ-4. Так, при микробиологических исследованиях кожи волосистой части головы и очагов поражения 36 больных СД наблюдали рост *Malassezia furfur* у 7 из 36 (19,4%), *Staphylococcus aureus* – у 14 (38,8%), *S. haemolyticus* – у 8 (22,2%), *S. saprophyticus* – у 9 (25%). Тогда как на коже туловища рост *M. furfur* отмечали у 2 (5,5%), *S. aureus* – у 11 (30,5%), *S. haemolyticus* – у 3 (8,3%) и *S. saprophyticus* – у 13 (36,1%) человек. Учитывая полученные данные, была разработана патогенетическая терапия, состоящая в назначении иммунокорректирующего препарата – производного аминопталгидразида («галавит») по 100 мг в/м в течение 5 дней на фоне наружного применения шампуня «хайкиназол» ежедневно в течение 5 дней. Лечение способствовало коррекции в цитокиновом статусе – повышению уровня ИЛ-4 ($P < 0,05$), участвующего в регуляции противобактериальной инфекции организма, что отразилось в возрастании длительности периода ремиссии и уменьшении количества рецидивов.

АВТОМАТИЧЕСКОЕ РИБОТИПИРОВАНИЕ КАК СПОСОБ ИДЕНТИФИКАЦИИ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Макарова Т.Б., Михалев А.С., Цветков И.Л.
ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС», Москва, Россия

AUTOMATED RIBOTYPING AS METHOD FOR IDENTIFYING PATHOGENIC MICROORGANISMS

Makarova T.B., Mikhalev A.S., Tsvetkov I.L.
«NEARMEDIC PLUS», Ltd, Moscow, Russia

Материалы и методы. Рестрикционный анализ геномной ДНК, в частности, генов рРНК – процедура трудоемкая и продолжительная, поэтому ее применяли практически только в научных целях. Однако благодаря этому был раскрыт серьезный потенциал риботипирования, помогающий дифференцировать даже очень близкие штаммы, идентифицировать изоляты, охарактеризовывать коллекции микроорганизмов и др. Столь широкие возможности метода стали хорошей предпосылкой к развитию технических устройств для реализации риботипирования в автоматическом режиме, одним из которых является система RiboPrinter® (DuPont™, США). Система была предложена для контроля микробиологической безопасности на пищевых производствах, но нашла применение в медицине и фармацевтической отрасли благодаря обширной базе данных, которую составляют риботипы более 8500 штаммов микроорганизмов из крупнейших коллекций, в том числе – ATCC (США), DSMZ (Германия) и Riken (Япония).

Результаты. Нами были обобщены некоторые примеры и результаты использования системы RiboPrinter® (RP) для идентификации и характеристики штаммов и изолятов микроорганизмов, представляющих интерес для прикладной и теоретической медицины. В частности, методом автоматического риботипирования были успешно идентифицированы веротоксигенные штаммы (энтероинвазивные и энтерогеморрагические) *Escherichia coli*, проведен их филогенетический анализ и установлены рибогруппы, ассоциированные с токсигенностью, RP рекомендован для быстрой идентификации патогенных штаммов *E. coli*.

25 штаммов *Salmonella enterica* серотипа Enteridis были дифференцированы вручную и автоматически с помощью RP. Риботипирование некоторых подтипов вручную было более удачным, но использованная для этого «классическая» методика труднее для реализации, а результаты почти невозможно стандартизировать, в отличие от более технологичных, полученных автоматически.

С помощью RP была успешно охарактеризована коллекция штаммов микроорганизмов семейства *Legionellaceae*, установлена связь с источником происхождения и серогруппой, отмечена хорошая воспроизводимость результатов автоматического риботипирования. Наконец, на примере *Staphylococcus caprae* и *Bacillus* spp. показано, что данные риботипирования удовлетворительно согласуются с фенотипическими признаками штаммов, в частности, их устойчивостью к антибиотикам, а значит, исследования подобных связей также имеют очевидную перспективу развития в дальнейшем.

Заключение. Автоматическое риботипирование, сохранив достоинства метода рестрикционного анализа вручную, существенно расширило возможности его применения, поскольку стало доступным для рядовых лабораторий, хорошо воспроизводимым и помог-

ло решить ряд практических задач. Система RP характеризуется большой пропускной способностью, сокращает время анализа, а полученные результаты легко интерпретировать с помощью постоянно пополняемой базы данных, открытой для всех пользователей RP, что дает возможность применять RP в медицинской науке, диагностической практике, а также на фармацевтических и пищевых производствах.

ФОРМИРОВАНИЕ АНТИТОКСИЧЕСКОГО ИММУНИТЕТА У ЦЫПЛЯТ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ ПРОТИВ КОЛИБАКТЕРИОЗА ШТАММОМ *ESCHERICHIA COLI* Б-5

Малинин М.Л., Ласкавый В.Н., Габалов К.П., Волкова М.В.

Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт, Саратов, Россия

FORMATION OF ANTITOXIC IMMUNITY FOR HENS UNDER IMMUNIZATION AGAINST COLIBACILLOSIS BY STRAIN *ESCHERICHIA COLI* B-5

Malinin M.L., Laskavy V.N., Gabalov K.P., Volkova M.V.

Saratov Research Veterinary Institute, Saratov, Russia

Цель работы – создание на основе штамма *Escherichia coli* Б-5 препарата для протективной иммунизации цыплят против колибактериоза за счет формирования антитоксического иммунитета.

Материалы и методы. В экспериментах использовали цыплят яйценоского кросса «Родонит-2». Цыплят иммунизировали в возрасте 22 дня живыми микробными клетками штамма *E. coli* Б-5 в дозах 500 тыс., 1 млн., 2 млн. и 1 млрд. КОЕ на голову. Взвесь микробных клеток вводили в объеме 0,5 мл перорально, однократно. Через 3 недели после иммунизации цыплят заражали смесью вирулентных штаммов *E. coli* №1, №388 (O2), №389 (O78). Исследования *in vitro* проводили по общепринятым методикам. В сыворотке крови цыплят определяли концентрацию и титр образующихся *in vitro* иммунокомплексов (ИК) к токсинам вирулентных штаммов *E. coli*.

Результаты. В сыворотке крови контрольных, не иммунизированных цыплят иммунокомплексы с токсинами *E. coli* не образовывались. У иммунизированных цыплят максимальная кратность разведения сыворотки крови, при которой концентрация специфических антител к токсинам вирулентных штаммов *E. coli* была еще достаточна для образования ИК *in vitro*, составляла 1/64. При этом титры бактерицидных антител оказались ниже 1/8. Это служило показателем формирования в организме иммунизированных против колибактериоза цыплят антитоксической защиты.

Заключение. Иммунизация цыплят против колибактериоза с помощью вакцины на основе штамма *E. coli* Б-5 сопровождается формированием антитоксического иммунитета, эффективного в отношении вирулентных штаммов кишечной палочки различных серогрупп.

Purpose - to create preparation for protective immunization of the young hens against colibacillosis on the basis of *Escherichia coli* strain B-5 by forming antitoxic immunity.

Materials and methods. The young hens of the egg-laying cross "Rhodonite-2" were used in the experiments. The young hens have been immunized at the age of 22 days with living microbial cells of *E. coli* strain B-5 at doses of 500 thousand, 1 million, 2 million and 1 billion microbial cells per head. The suspensions of microbial cells was injected in a volume of 0.5 ml orally once. The young hens were infected with a mixture of virulent *E. coli* №1, №388 (O2), №389 (O78) through 3 weeks after immunization. *In vitro* studies were performed by standard methods. In chick serum titer and concentration of the *in vitro* generated immunocomplexes (IC) to toxins virulent *E. coli* were determined.

Results. Immunocomplexes with *E. coli* toxins were not formed in the blood serum of control, unimmunized hens. At maximum multiplicity of the dilution of immunized hen blood serum at which the concentration of specific antibodies to toxins virulent *E. coli* was still sufficient to produce IC *in vitro*, was 1/64. At the same time titres of bactericidal antibodies were lower than 1/8. It serves as an indicator of formation of antitoxic protection in the organism of young hens which were immunized against colibacillosis.

Conclusion. The immunization of young hens against colibacillosis by a vaccine based on an *E. coli* strain B-5 accompanied the formation of antitoxic immunity effective against virulent strains of different serogroups of *E. coli*.

ЭФФЕКТИВНАЯ ТЕРАПИЯ ХРОНИЧЕСКОГО РЕЦИДИВИРУЮЩЕГО ВУЛЬВОВАГИНАЛЬНОГО КАНДИДОЗА, СОЧЕТАЮЩЕГОСЯ С ПОВЫШЕННОЙ КОЛОНИЗАЦИЕЙ КИШЕЧНИКА *CANDIDA SPP.*

Малова И.О., Кузнецова Ю.А.

Иркутский государственный медицинский университет МЗ РФ, Иркутск, Россия

EFFECTIVE THERAPY OF CHRONIC RECURRENT VULVOVAGINAL CANDIDOSIS ASSOCIATED WITH HIGH COLONIZATION OF INTESTINAL TRACT BY *CANDIDA SPP.*

Malova I.O., Kuznetsova J.A.

Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia

Цель – оценить эффективность терапии натамицином у женщин с хроническим рецидивирующим вульвовагинальным кандидозом, сочетающимся с повышенной колонизацией кишечника *Candida spp.*

Материалы и методы. Под наблюдением находились 50 пациенток в возрасте от 16 до 41 года (средний возраст – 30,8±4,3 лет), давность заболевания – от 1 до 5 лет. Все женщины были осмотрены в период обострения заболевания. При культуральном исследовании титр *Candida spp.*, выделенных из влагалища, составил более 10⁴ КОЕ/мл, при исследовании кала – более 10⁴ КОЕ/мл. У 43 (86%) женщин культуры, выделенные из влагалища и кишечника, были идентичны: у 33 (66%) – *C. albicans*, у 8 (16%) – *C. krusei*, у 2 (4%) – *C. glabrata*. У трех пациенток выявили сочетание *C. albicans* (влагалище) + *C. krusei* (кишечник), у двух – *C. krusei* (влагалище) + *C. albicans* (кишечник), у одной – *C. albicans* (влагалище) + *C. tropicalis* (кишечник), у одной – *C. albicans* (влагалище) + *C. glabrata* (кишечник).

Для лечения кандидоза влагалища назначали вагинальные свечи натамицина по 100 мг (1 свеча) 1 раз в день в течение 6 дней, для эрадикации *Candida spp.* из кишечника – натамицин в таблетках по 100 мг (1 таблетка) 4 раза в день per os в течение 10 дней.

Результаты. После курса терапии натамицином пациентки жалоб не предъявляли, при осмотре воспалительных явлений не наблюдали. По результатам культурального исследования влагалищного отделяемого, роста грибов не было у 80% пациенток, у 20% – рост *Candida spp.* составил 10³ КОЕ/мл. По результатам культурального исследования кала, после лечения кандидоза кишечника роста грибов не отмечали у 76% женщин, у 24% – рост составил менее 10³ КОЕ/мл.

Выводы. Натамицин является высокоэффективным препаратом для лечения хронического рецидивирующего вульвовагинального кандидоза, сочетающегося с повышенной колонизацией кишечника *Candida spp.*

РАСПРОСТРАНЕНИЕ *CANDIDA SPP.* У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ В УСЛОВИЯХ СТАЦИОНАРА

Мальгина О.Г., Бажукова Т.А.

Северный государственный медицинский университет, Архангельск, Россия

THE SPREAD OF *CANDIDA SPP.* IN PRETERM INFANTS IN THE HOSPITAL

Malygina O.G., Bazhukova T.A.

Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia

Цель – изучить распространение *Candida spp.* в основных биотопах у недоношенных детей в условиях стационара.

Материалы и методы. Обследовано 58 недоношенных детей с весом до 1500 г при рождении, находящихся на выхаживании в Архангельской детской клинической больнице. Исследовали отделяемое кожных покровов, ротоглотки, мочевыделительной системы и толстого кишечника при поступлении и при выписке из отделения патологии новорожденных и недоношенных детей. Средний возраст обследованных детей при поступлении – 15 дней, при выписке – 56 дней.

Результаты. Среди обследованных 58 детей при поступлении в отделение у 28 (48,3%) выявляли *Candida spp.*, к выписке – у 11

(19,0%). Из отделения реанимации новорожденных детей (ОРН) было переведено 33 человека (56,9%), у 20 (60,6%) высевали грибы, половина детей (50%) была пролечена антимикотическими средствами. Из родильных домов города и области поступило 25 детей (43,1%), у 8 (32%) – отмечали рост грибов. При поступлении чаще выявляли грибы в отделяемом толстой кишки (36,2%) в количестве 5,0 lg КОЕ/г.; на поверхности кожных покровов – у 20,7% обследованных лиц в количестве 2,1 lg КОЕ/см². В моче у 13,8% детей обнаруживали данные микроорганизмы в количестве 3,1 lg КОЕ/мл, а в отделяемом ротоглотки – у 8,6% (3,6 lg КОЕ/г). Во всех биотопах преобладала *C. tropicalis*. Чаще грибы наблюдали в одном биотопе (50%), у 35,7% – в двух и у 14,3% – в трех. К выписке у 21 ребенка (75%) отмечали элиминацию грибов, преимущественно на фоне противогрибковой терапии (61,9%). У 8 детей (38,1%) элиминация, возможно, была связана с влиянием грудного вскармливания и назначения пробиотиков. У 7 (25%) человек грибы сохранялись на протяжении всей госпитализации, несмотря на то, что 71,4% получали противогрибковое лечение. Проанализировав выделенные штаммы микроорганизмов, установили, что они были резистентны к антимикотическим препаратам. У всех детей (100%) к выписке выявляли грибы в отделяемом ротоглотки и у 5,2% – в отделяемом толстой кишки. Из мочи грибы не выделяли. Количество осталось на прежнем уровне с преобладанием *C. tropicalis*.

Заключение. Таким образом, на момент поступления в отделение обсеменение микромицетами *Candida* отмечали почти у половины обследованных детей, чему способствовала госпитализация в ОРН. К выписке из отделения выхаживания сохраняются штаммы, резистентные к противогрибковым препаратам.

Purpose – to study dissemination of *Candida spp.* in the main biotopes in preterm infants in hospital conditions.

Materials and methods. There were examined 58 preterm infants weighing up to 1500 g at birth, they were nursed at the Arkhangelsk Children's Clinical Hospital. We studied discharge of the skin cover, the oral pharynx, the kidney tract and the large intestine at admission and dismissal from the Neonatal and Preterm Pathology Unit. The average age of the examined children at admission was 15 days, at dismissal – 56 days.

Results. At admission to the Unit among 58 examined children, 28 (48.3%) had *Candida spp.*, at discharge – 11 (19.0%). 33 children (56.9%) were moved from the Neonatal Intensive Care Unit (NICU), in 20 (60.6%) of them, fungi were inoculated, a half of the children (50%) were treated with antimycotics. 25 children (43.1%) were admitted from the city and regional maternity hospitals, in 8 (32%), fungi growth was observed. At admission, fungi were detected more often in the large intestine discharge (36.2%) at the rate of 5.0 lg Colony-forming Units (CFU)/g.; in skin cover surface – in 20.7% of the examined children at the rate of 2.1 lg CFU/cm². In urine 13.8% of the children, there were found these microorganisms at the rate of 3.1 lg CFU/ml, and in the oral pharynx discharge – in 8.6% (3.6 lg CFU/g). In all the biotopes, *C. tropicalis* prevailed. More often, fungi were observed in one biotope (50%), in 35.7% of the children – in two biotopes and in 14.3% – in three biotopes. At dismissal from the Hospital, in 21 children (75%), there was observed elimination of fungi, mainly against the background of antifungal therapy (61.9%). Probably in 8 children (38.1%), elimination was associated with a breast feeding effect and administration of probiotics. In 7 (25%) patients fungi were persisted throughout hospitalization, despite the fact that 71.4% received antifungal treatment. During analysis of the microorganisms' isolated strains, it has been established that they were resistant to antifungal preparations. At dismissal in all children (100%), fungi were detected in the discharge of the oral pharynx, and in 5.2% – in the large intestine discharge. Fungi were not isolated from urine. The number remained at the same level with predominance of *C. tropicalis*.

Conclusion. Thus at admission to the Unit, dissemination with *Candida* micromycetes was observed in almost half of the examined children, this was promoted by hospitalization to the Neonatal Intensive Care Unit. At dismissal from the Special Care Nursery Unit, there were preserved strains resistant to antifungal preparations.

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ *SALMONELLA ENTERITIDIS*, *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*, *ENTEROBACTER CLOACAE* – ПАТОГЕНОВ ОСТРЫХ ДИАРЕЙНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Малыш Н.Г.

Сумский государственный университет, Сумы, Украина

ANTIBIOTIC RESISTANCE OF *SALMONELLA ENTERITIDIS*, *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*, *ENTEROBACTER CLOACAE* – PATHOGENS OF ACUTE DIARRHEAL INFECTIONS

Malyshev N.G.

Sumy State University, Sumy, Ukraine

Согласно современным рекомендациям, антибактериальные препараты показаны при инвазивных и секреторных диареях у детей раннего возраста, а также пациентам всех возрастных групп при тяжелых формах инвазивных диарей, брюшном тифе, кишечном амебиазе и холере.

Цель работы – изучить показатели устойчивости *S. enteritidis*, вызывавших сальмонеллез, *K. pneumoniae* и *E. cloacae* – возбудителей острых диарейных инфекций, к используемым в терапевтической практике антибиотикам.

Материалы и методы. Штаммы *K. pneumoniae* (всего – 50), *E. cloacae* (40), *S. enteritidis* (42), у которых изучали стойкость к антибактериальным препаратам, выделены из фекалий больных, госпитализированных в Сумскую городскую детскую клиническую больницу и Сумскую областную инфекционную клиническую больницу с диагнозом «острая кишечная инфекция». Чувствительность микроорганизмов к ампициллину (AM), цефазолину (CF), цефотаксиму (CFM), цефтриаксону (CFN), цефтазидиму (CFD), гентамицину (GE), амикацину (AN), имипенему (IM), меропенему (MER), ципрофлоксацину (CIP), офлоксацину (OFL), хлорамфениколу (CL) определяли диско-диффузионным методом в соответствии с рекомендациями и критериями NCCLS.

Результаты. Подавляющее большинство штаммов *K. pneumoniae* (98%) и *E. cloacae* (95%), выделенных из кала больных острыми диарейными инфекциями, были нечувствительны к AM. Резистентных к AM *S. enteritidis* было в 3 раза меньше (30,9% тестированных штаммов). Среди цефалоспоринов наибольшей активностью обладали CFN и CFD. Уровни чувствительности клебсиелл и энтеробактеров варьировали от 90 до 97,5%. Культур сальмонелл, устойчивых к CFN и CFD, мы не обнаружили. К CF и CFM исследованные штаммы *K. pneumoniae*, *E. cloacae* и *S. enteritidis* оказались менее чувствительными (от 55 до 70% клебсиелл, от 40 до 65% энтеробактеров, от 76,2 до 78,6% сальмонелл). Относительно высокую активность в отношении *K. pneumoniae*, *E. cloacae* и *S. enteritidis* сохранили аминогликозиды. Резистентными к GE и AN вышеобозначенные микроорганизмы оказались в 10 и 15 % случаев; 30 и 35%; 11,9 и 9,5%. Наибольшую природную активность проявляли карбапенемы и фторированные хинолоны. Установлена абсолютная чувствительность *K. pneumoniae* и *E. cloacae* к IM и MER, *S. enteritidis* к фторхинолонам (CIP, OFL) и CL. К IM и MER были устойчивыми 14,5 и 7,1% тестированных сальмонелл, к CIP и OFL – 12 и 16% клебсиелл, 20 и 30% энтеробактеров.

Выводы. В настоящее время сохраняется чувствительность *S. enteritidis*, *K. pneumoniae* и *E. cloacae* к широкому спектру антибактериальных препаратов. Препаратами выбора эмпирической терапии ОКИ являются цефалоспорины II и III поколений и аминогликозиды.

ИННОВАЦИИ В ПРОБОПОДГОТОВКЕ И ОПРЕДЕЛЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ (И ИХ МАРКЕРОВ) ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Малышев В.В., Сбойчаков В.В., Змеева Т.А.

Военно-медицинская академия имени С.М.Кирова, Санкт-Петербург, Россия

INNOVATIONS IN SAMPLE PREPARATION AND DETECTION OF PATHOGENS (AND THEIR MARKERS) ACUTE ENTERIC VIRAL INFECTIONS

Malyshev V.V., Sboychakov V.V., Zmeeva T.A.

Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia

Цель работы – оценка эффективности микрофилтрационных мембран и мембранных устройств в пробоподготовке и определении кишечных вирусов (ротавирусы, норовирусы, астровирусы, энтеровирусы, вирус гепатита А) и их маркеров.

Материалы и методы. Материалом для исследования служили очищенные от бактерий и балластных белков методом «холодной стерилизации» экстракты фекалий 228 больных с острыми кишечными инфекциями вирусной этиологии (ОКВИ) и 397 больных острыми кишечными инфекциями неустановленной этиологии (ОКИНЭ). Кроме того, изучали элюаты 177 проб воды (поверхностной и питьевой) из регионов с эпидемической заболеваемостью острыми кишечными инфекциями (ОКИ). Для пробоподготовки использовали микрофилтрационные мембраны, на основе ацетат-целлюлозы и нитрат-целлюлозы, а также экспериментальные, разработанные нами совместно со специалистами НИИ ВМС РАН, имидо-имидные мембраны на основе ароматических полиимидоимидных соединений (ПАИ). На процесс мокрого формования влияли: состав композиции, время предформования, температура формования, влажность, состав осадительной ванны. Для определения вирусов и их маркеров применяли следующие методы: ПЦР в реальном времени, иммуноферментный анализ (ИФА) и реакцию латекс агглютинации (РЛА).

Результаты. Выявили наиболее оптимальные режимы концентрирования кишечных вирусов из первичного материала на мембранах из нитрат-целлюлозы и экспериментальных мембран ПАИ. В материале от больных маркеры вирусного присутствия фиксировали на 27-29 циклах, тогда как материал из внешней среды – на 43-44 циклах в реакции ПЦР в реальном времени с использованием мультиплексных тест-систем. Методы ИФА и РЛА также показали высокую специфичность и чувствительность.

Выводы. Нами установлена высокая эффективность мембран из нитрат-целлюлозы и ПАИ. В пробоподготовке необходимо шире применять последовательно разные мембраны, исходя из поставленных задач, по поиску возбудителей ОКВИ в материале от больных и в элюатах воды. Результатами проведенного сравнительного изучения методов определения кишечных вирусов с использованием положительных проб на ротавирусы показана высокая специфичность и чувствительность нового диагностического набора для РЛА.

МИНИМАЛЬНАЯ ИНГИБИРУЮЩАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ ИЗОНИАЗИДА, ОПРЕДЕЛЕННАЯ МЕТОДОМ REMA, ДЛЯ УСТОЙЧИВЫХ ШТАММОВ MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Маничева О.А.¹, Мельникова Н.Н.¹, Догондзе М.З.¹, Стеклова Л.Н.¹, Змазнова А.Е.¹, Журавлев В.Ю.¹, Мокроусов И.В.², Вязова А.А.², Герасимова А.А.³, Нарвская О.В.^{1,2}, Вишневыский Б.И.¹

¹ НИИ фтизиопульмонологии МЗ РФ, ² НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, ³ Государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATION OF ISONIAZID (MIC) DETERMINED BY REMA METHOD FOR THE RESISTANT STRAINS OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Manicheva O.A.¹, Melnikova N.N.¹, Dogonadze M.Z.¹, Steklova L.N.¹, Zmaznova A.E.¹, Zhuravlev V.Y.¹, Mokrousov I.V.², Vyazovaya A.A.², Gerasimova A.A.³, Narvskaya O.V.^{1,2}, Vishnevskiy B.I.¹

¹ Research Institute of Phthisiopulmonology of MH RF; ² Pasteur Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology; ³ Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russia

Цель – определить минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) изониазида для устойчивых к нему штаммов *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) с различными гено- и фенотипическими характеристиками.

Материал и методы. Исследовали 93 резистентных к изониазиду штамма МБТ. Спוליготип определяли методом Kamerbreek J. et al. (1997), детекцию мутаций в генах: *katG*, *inhA*, *ahpC-oxylR* – с помощью биологических микрочипов «ТБ-БИОЧИП». МИК изониазида определяли методом REMA (Palomino J.-C. et al., 2002), использовали планшетный ридер FLUOstar Optima (длина волны возбуждения – 530 нм, излучения – 590 нм). Конечные концентрации изониазида – от 0,031 мкг/мл до 4 мкг/мл, каждая концентрация в 4-6 повторностях. Срок инкубации – 7-12 суток, затем вносили резазурин и через 18 ч регистрировали флуоресценцию. С помощью программы Excel вычисляли средние значения и доверительный интервал, строили графики. МИК препарата считали точку выхода кривой на плато.

Результаты. К генотипу Beijing (сполиготип SIT1) было отнесено большинство (89,2%) штаммов. Остальные штаммы принадлежали к другим генетическим линиям/семействам: LAM (8,6%), H3(Ural) (7,5%), H4 (2,2%), 63 (67,7%) штамма обладали множественной (МЛУ) и 30 (32,3%) – широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ). У МБТ семейства Beijing были выявлены мутации в гене *katG*: Ser315-Thr (93,5%), Ser315-Thr в сочетании с Ile335-Val (3,9%), Ser315-Arg и Ser315-Arg+Ile335-Val (по 1,3%). Изониазид задерживал рост 88 из 93 (94,6%) штаммов МБТ в концентрациях свыше 4 мкг/мл. МИК изониазида для 94,3% штаммов с мутацией Ser315-Thr превышала 4 мкг/мл, лишь у 5 штаммов (5,7%, все принадлежали к спוליготипу SIT1) она была менее 4 мкг/мл. 52 из 77 (67,5%) штаммов МБТ семейства Beijing обладали фенотипическим МЛУ профилем, при этом 94,2% из них были устойчивы к изониазиду в концентрациях более 4 мкг/мл. При ШЛУ профиле (32,5%) штаммов МБТ этого семейства изоляты, устойчивые к изониазиду в концентрациях более 4 мкг/мл, составляли 92,0%. Все штаммы МБТ с МЛУ и ШЛУ, относящиеся к другим семействам, несли мутацию Ser315-Thr в гене *katG* и характеризовались уровнем устойчивости к изониазиду более 4 мкг/мл.

Выводы. Штаммы МБТ генотипов Beijing, LAM, H3(Ural), H4 с МЛУ/ШЛУ профилем, ассоциированным с мутациями в гене *katG* (преимущественно Ser315-Thr), обладали в подавляющем большинстве (94,6%) устойчивостью к изониазиду в концентрациях более 4 мкг/мл. При исследовании МИК новых противотуберкулезных препаратов и изониазида, в качестве препарата сравнения, последний следует использовать в концентрациях от 0,5 до 32 мкг/мл для штаммов МБТ с МЛУ/ШЛУ.

Благодарности. European Union's Seventh Framework Programme (FP7/2007-2013, grant agreement n° 261378).

The aim was to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of isoniazid for *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) isoniazid-resistant strains different geno- and phenotype characteristics.

Material and methods. 93 Mtb isoniazid-resistant strains were researched. Spoligotype was determined by Kamerbreek J. et al. (1997), mutations in the genes: *katG*, *inhA*, *ahpC-oxylR* were detected by using biological microchips "TB-Biochip". Isoniazid MIC was determined by REMA (Palomino J.-C. et al., 2002), using plate reader FLUOstar Optima (excitation 520 nm, emission 590 nm). Final concentrations of isoniazid - from 0.031 µg/ml to 4 µg/ml, each concentration in 4-6 replications. Incubation time - 7-12 days then resazurin was added and in 18 hours the fluorescence was recorded. We calculated mean values and confidence intervals and then plotted with the help of Excel. MIC of the drug was considered the exit point of the curve on the plateau.

Results. The majority of isolates (82.8%) were assigned to the Beijing genotype (spoligotype SIT1); the other main families were LAM (8.6%), H3(Ural) (6.5%), H4 (2.2%). 63 (67.7%) strains were multidrug resistant (MDR) and 30 (32.3%) - extensively drug-resistant (XDR). In Beijing strains were identified mutations in gene *katG*: Ser315-Thr (93.5%), Ser315-Thr in combination with Ile335-Val (3.9%), Ser315-Arg and Ser315-Arg + Ile335-Val (1.3%). Isoniazid inhibited the growth of 88 of 93 (94.6%) Mtb strains in concentrations above 4 µg/ml. Isoniazid MIC in 94.3% of strains with mutation Ser315-Thr exceeded 4 µg/ml, only in 5 strains (5.7%, all belonged to spoligotype SIT1) it was less than 4 µg/ml. 52 of 77 (67.5%) Mtb strains of Beijing family possessed phenotypical MDR profile, of which 94.2% were resistant to isoniazid at concentrations more than 4 µg/ml. In case of XDR profile (32.5%) of Mtb strains of this family 92.0% isolates were resistant to isoniazid at concentrations more than 4 µg/ml. All MDR/XDR Mtb strains belonging to other families had a mutation Ser315-Thr in gene *katG* and characterized by a level of isoniazid resistance of more than 4 µg/ml.

Conclusions. In the vast majority (94.6%) Mtb strains genotypes Beijing, LAM, H3 (Ural), H4 with MDR/XDR profiles associated with mutations in the *katG* (predominantly Ser315-Thr), were resistant to isoniazid at concentrations more than 4 µg/ml. In the study of the MIC of new anti-TB drugs, and isoniazid, as the reference drug, the latter should be used in concentrations ranging from 0.5 to 32 µg/ml for MDR/XDR Mtb strains.

Acknowledgments. European Union's Seventh Framework Programme (FP7/2007-2013, grant agreement n° 261378).

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ ПРОФИЛАКТИКИ БАКТЕРИАЛЬНО-ГРИБКОВЫХ ОППОРТУНИСТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ РОТОГЛОТКИ У ДЕТЕЙ С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ

Марковская А.А., Леванова Л.А.

Кемеровская государственная медицинская академия, Кемерово, Россия

IMPROVEMENT OF PREVENTION METHODS OF HIV-INFECTED CHILDREN'S BACTERIO-FUNGIAL OPPORTUNISTIC INFECTIONS OF OROPHARINX

Markovskaya A.A., Levanova L.A.

Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russia

Цель исследования – разработка патогенетически обоснованных методов профилактики оппортунистических инфекций у ВИЧ-инфицированных детей.

Материалы и методы. Исследование было построено по типу «случай-контроль». В опытную группу вошли 59 детей с ВИЧ-инфекцией (II-III стадия), средний возраст которых составил 2,3±0,2 года. Группа сравнения включала 45 ВИЧ-негативных относительно здоровых детей. Группы были сопоставимы по возрасту и полу. Исследование микробиоты ротоглотки проводили согласно приказу №535 от 22.4.1985 г. «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений».

Результаты и обсуждение. При анализе состава групп микроорганизмов по индексу постоянства (С) установили различия спектра бактерий, входящих в состав микробиоты ротоглотки у ВИЧ-позитивных детей, по отношению к группе сравнения. У ВИЧ-позитивных детей отмечали расширение спектра и значительное возрастание в составе микробиоты ротоглотки условно-патогенных микроорганизмов с высокой экспрессией факторов вирулентности, способствующих развитию оппортунистических инфекций на фоне

сниженной иммунологической реактивности организма. Так ДНКазной, липазной и гемолитической активностью среди стафилококков обладали 27,8%; 80,6% и 88,9% культур соответственно. Если стафилококки были выделены от детей группы сравнения, то ДНКазной и липазной активностью обладали только 10,3% и 35,6% культур соответственно, а гемолитической – 28,6% штаммов ($p=0,02$). Среди *Candida* spp., выделенных у детей основной группы, 39,3% обладали гемолитической и 71,4% – липазной активностями. Часто регистрировали ассоциации, в состав которых входили *Candida albicans*. Установлено, что микроорганизмы, составляющие ассоциации как у ВИЧ-инфицированных детей, так и у относительно здоровых детей, не проявляют друг к другу антагонистических взаимоотношений, более того *Candida* spp. потенцируют рост клбисселл. Среди часто встречающихся штаммов (*C. albicans*, *C. ciferii*, *C. dubliniensis*, *C. guilliermondii*, *C. zeylanoides*), выделенных из ротоглотки ВИЧ-позитивных детей, наибольшую чувствительность наблюдали по отношению к нистатину (100%) и клотримазолу (90-100%). К амфотерицину В были чувствительны только *C. albicans* и *C. ciferii* (89 и 100% соответственно), к кетоконазолу и итраконазолу – *C. albicans* (18,5 и 14,8% соответственно). Самую низкую чувствительность у всех штаммов выявили по отношению к флюконазолу (39,3%) – *C. albicans*, 50% – *C. ciferii*, по 3,7% – *C. guilliermondii*, *C. zeylanoides*, *C. dubliniensis*.

Выводы. 1) Для снижения риска развития эндогенных бактериально-грибковых инфекций у ВИЧ-инфицированных детей необходимо проводить своевременную коррекцию микробиоценоза ротоглотки, которую следует вести в двух направлениях: устранение ассоциативных микробных сообществ и, в первую очередь, с *Candida* spp., а также нормализация количества и функций доминантных микросимбионтов. 2) Для эффективного лечения кандидозной инфекции полости рта у ВИЧ-позитивных детей следует идентифицировать выделенные микромицеты и определять их чувствительность к антимикотикам.

РЕДКИЙ ВАРИАНТ ТЕЧЕНИЯ МИКРОСПОРИЙНОЙ ИНФЕКЦИИ

Медведева Т.В., Чилина Г.А., Черныш Д.Б.

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

RARE CASE OF MICROSPORIDIAN INFECTION FLOW

Medvedeva T.V., Chilina G.A., Chernysh D.B.

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

Микроспория – широко распространенное заболевание кожи микотической природы, наиболее часто регистрируемое у детей. Гриб *Microsporium canis* является основным возбудителем микроспории на территории России: такие патогены как *M. audouinii*, *M. ferrugineum*, *M. gypseum* выделяют значительно реже. Случаи регистрации микроспории, вызванной *M. persicolor*, *M. praecox*, *M. fulvum*, относятся к редчайшим.

Диагностика микроспории базируется на оценке клинической картины в совокупности с полноценными микологическими тестами, включающими КОН-тест и культуральное исследование, а также осмотре под лампой Вуда (при поражении волос и ногтевых пластинок).

Сложности в диагностике и лечении данного заболевания могут быть вызваны: нестандартной локализацией процесса (брови, ресницы, ногтевые пластинки); нехарактерным возрастом (новорожденные, пожилые); редко выделяемым патогеном, например, *M. gypseum*, *M. audouinii* и проч., необычными свойствами возбудителя (нефлуоресцирующие культуры); атипичной клинической картиной.

Среди атипичных вариантов течения микроспории в случае поражения гладкой кожи принято выделять паразитарную ахромью, эритематозно-отечную, экссудативную, папулезно-сквамозную, инфильтративно-нагноительную (глубокую), трансформированную за счёт применения топических кортикостероидов. При поражении волосистой части головы выделяют также трихофитоидную, себорейную и протекающую по типу асбестовидного лишая формы.

Цель – продемонстрировать редкий вариант течения микроспории.

Материалы и методы. Приводим наше наблюдение. Пациентка

Д., 26 лет, обратилась в консультативно-диагностическое отделение НИИ медицинской микологии в июне 2014 г. с жалобами на значительное ухудшение общего самочувствия, наличие высыпаний в области внутренней поверхности бедер, лобка. Больная с конца 02.14 г., когда появилось пятно на внутренней поверхности бедра.

Результаты. При обращении к дерматологу по месту жительства был установлен диагноз «экзематид», назначена мазь, содержащая кортикостероид – состояние без улучшения. Появились гнойничковые элементы, в связи с чем диагноз был изменен на «пиодермию».

Микологические тесты не проводили. В течение 4 месяцев получала курсы антибактериальных, антигистаминных, десенсибилизирующих средств, витаминотерапию, что помогало достигнуть временной ремиссии, но затем кожный процесс вновь рецидивировал. Пациентка была направлена в НИИ медицинской микологии для проведения биопсии с последующим гистологическим исследованием с предположительным диагнозом «атипичная пиодермия». При осмотре: на коже лобка, внутренней поверхности бедер – множественные гиперемизированные, болезненные на ощупь, узловатые образования, при надавливании на часть которых выделяется гнойно-геморрагическое содержимое, имеются множественные комедоны.

При проведении микологических тестов от 11.06.15г.: при микроскопии элементы гриба не обнаружили, при посеве отмечали рост *Microsporium canis*. Установлен диагноз «микроспория, инфильтративно-нагноительная форма». Пациентке назначена системная и наружная антифунгальная терапия и рекомендовано наблюдение в диспансер по месту жительства.

Выводы. 1) Атипичное течение такого широко распространенного микоза, как микроспория, затрудняет его своевременную диагностику. 2) Нерациональное назначение топических кортикостероидов содействует трансформации классического течения поверхностных микозов и усложняет их терапию. 3) Пренебрежение в использовании классических микологических тестов способствует несвоевременной диагностике и, соответственно, сложностям в течении и лечении поверхностных микозов.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОТИВОРЕЦИДИВНОЙ ТЕРАПИИ РЕЦИДИВИРУЮЩЕГО КАНДИДОЗА ПИЩЕВОДА

Мелёхина Ю.Э., Шевяков М.А., Авдеенко Ю.Л., Фролова Е.В., Васильева Н.В., Климко Н.Н.

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

EFFICACY OF ANTI-RELAPSE THERAPY OF RECURRENT ESOPHAGEAL CANDIDOSIS

Melekhina J.E., Shevyakov M.A., Avdeenko J.L., Frolova E.V., Vasilieva N.V., Klimko N.N.

Kashkin Research Institute of Medical Mycology of Metchnikov North-West State Medical University, St. Petersburg, Russia

Проблема рецидивирующего кандидоза пищевода (РКП) у пациентов без ВИЧ-инфекции изучена недостаточно. Заболевание снижает качество жизни у пациентов, увеличивает затраты на лечение и ведёт к таким осложнениям, как стриктура и пищеводное кровотечение.

Цель исследования – изучить этиологию, факторы риска, иммунологические особенности и эффективность противорецидивной антимикотической терапии у пациентов с РКП.

Материалы и методы. В период 2004-2014 гг. обследованы 124 пациента РКП в возрасте от 46 до 65 лет (медиана – 53), 91 женщин и 33 мужчины. Диагноз РКП установлен на основании повторного эпизода кандидоза пищевода в течение года после доказанного излечения первичного эпизода. Всем больным выполняли эндоскопическое исследование с биопсией слизистой оболочки пищевода, микроскопическое исследование мазков-отпечатков слизистой оболочки пищевода и посев биоптата слизистой оболочки пищевода с определением вида возбудителя. Идентификацию возбудителя проводили с помощью биохимических тестов с использованием тест-систем Auhacolor - 2 и MALDI-TOF масс-спектрометрии. Определение чувствительности возбудителей к антимикотикам осуществляли с помощью диско-диффузионного метода CLSI M44. Иммунологическое обследование включало в себя иммунофенотипирование лим-

фоцитов иммуноцитохимическим методом с помощью моноклональных антител, определение спонтанной и индуцированной продукции ИНФ-у методом иммуоферментного анализа и определение ИЛ10. Лечение рецидива проводили флуконазолом в дозе 150 мг в день в течение четырех недель, с последующей противорецидивной терапией флуконазолом по 150 мг один раз в неделю в течение 6 месяцев.

Результаты. В 99% возбудителем была *Candida albicans*, чувствительная *in vitro* к флуконазолу и вориконазолу в 100%. Основными фоновыми заболеваниями развития РКП являются заболевания щитовидной железы (43%) с гипотензией (17%), бронхиальная астма и сахарный диабет 2 типа, а факторами риска — курение (100%), применение ингаляционных (90%) или пероральных глюкокортикоидов (52%), а также употребление очень горячей пищи (67%). Особенности изменений общего иммунитета — достоверное снижение абсолютного числа Т-лимфоцитов, Т-хелперов (CD4+), цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8+) и естественных киллеров (CD16+), уменьшение фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов, повышение спонтанной продукции ИНФ-у и ИЛ10. Противорецидивная антимикотическая терапия в течение 6 месяцев оказалась эффективной у 100% больных.

Выводы. Рецидивирующий кандидоз пищевода вызывается *C. albicans*, чувствительной к флуконазолу и вориконазолу. Всем больным кандидозом пищевода рекомендовано наблюдение из-за высокой частоты рецидивов. Применение флуконазола 150 мг в сутки в течение 4 недель для лечения рецидива кандидоза пищевода и 150 мг в неделю в течение 6 месяцев — для его профилактики эффективно и безопасно.

ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА НА ОСНОВЕ ГИДРОЛИЗАТОВ ПАТОЧНОЙ МЕЛАССЫ

Менкус Е.В., Осолодченко Т.П., Андреева И.Д.

Институт микробиологии и иммунологии им. И. И. Мечникова Национальной академии медицинских наук Украины, Харьков, Украина

THE NUTRIENT MEDIUM BASED ON MOLASSES SYRUP HYDROLYSATES

Menkus E.V., Osolodchenko T.P., Andreieva I.D.

Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

В последнее время всё больший интерес для исследователей представляет использование белков растительного происхождения в качестве основы для питательных сред.

Цель — получение и оценка питательной среды из паточной мелассы для культивирования микроорганизмов.

Материалы и методы. Получено несколько серий гидролизатов из паточной мелассы. Проверку ростовых свойств полученной питательной среды осуществляли с использованием стандартных штаммов микроорганизмов, рекомендованных для контроля качества питательных сред, а также клинических штаммов, выделенных от пациентов с заболеваниями органов дыхания. Наличие роста при посеве разведения культуры, которая содержала 10^7 микробных клеток в мл, расценивали как показатель удовлетворительного ростового качества для конкретного тест-штамма. Результаты оценивали через 24 часа культивирования для бактерий и через 48 часов — для *Candida spp.*

Результаты. По физико-химическим показателям гидролизаты, полученные из паточной мелассы, не отличались от стандартного питательного агара. Исследуемую среду использовали для культивирования следующих групп микроорганизмов: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*. Параллельно приводили посев на контрольную среду. При сравнении полученных результатов смогли оценить продуктивность питательной среды, полученной в результате гидролиза паточной мелассы. Установлено, что штаммы микроорганизмов как музейные, так и клинические, по культуральным и морфологическим признакам существенно не отличались при выращивании на исследуемой и контрольной средах.

Выводы. Питательная среда на основе паточной мелассы, полученная путем гидролиза, имеет удовлетворительные ростовые свойства и по своим качествам не уступает стандартной. Имея низкую себестоимость, питательная среда на основе гидролизатов паточной мелассы является актуальной для экспериментальной и

практической бактериологии.

Recently the application of vegetable proteins as base of culture mediums gains an increasing interest from scientists.

Aim — the development and evaluation of culture medium from molasses syrup for microorganisms cultivation.

Materials and methods. Several series of molasses syrup hydrolysates were obtained. The evaluation of growth properties of the developed culture medium was carried out with the use of the standard microorganisms strains, recommended for culture medium quality control, as well as clinical strains isolated from the patients with the respiratory tract diseases. The presence of growth after inoculation of diluted culture that contained 10^7 microbial cells per ml was considered as a marker of adequate growth quality for the certain test strain. The results were evaluated after the 24 hours of culture for bacteria and 48 hours for *Candida spp.*

Results. The physical and chemical parameters of the hydrolysates obtained from molasses syrup were no different from the standard agar culture medium. The studied culture was used for cultivation of the following microorganisms: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*. Concurrently, an inoculation into the control medium was carried out. The comparison of the obtained results has allowed us to evaluate the productivity of the culture medium obtained as a result of hydrolysis of molasses syrup. It was established that the culture and morphological properties of the microorganisms strains, both museum and clinical, did not vary considerably after being cultivated on both the studied and control mediums.

Conclusion. Culture medium based on molasses syrup, obtained by hydrolysis, had acceptable growth properties and its quality is not below that of the standard medium. As it has low prime cost, the application of culture medium developed from molasses syrup hydrolysates is of interest for experimental and practical bacteriology.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМБИНИРОВАННОЙ АНТИБИОТИКО- И ИММУНОТЕРАПИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОЙ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ У МЫШЕЙ, ВЫЗВАННОЙ ЛЕКАРСТВЕННО-УСТОЙЧИВЫМ ШТАММОМ МИКОБАКТЕРИЙ

Митин Ю.А., Кацалуха В.В., Пастушенков В.Л., Пак Н.В.

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

ESTIMATION OF EFFICIENCY OF THE COMBINED ANTIBIOTIC-AND IMMUNOTHERAPY OF EXPERIMENTAL GENERALIZED TUBERCULOSIS INFECTION IN MICE CAUSED BY THE DRUG-RESISTANT STRAIN OF MYCOBACTERIA

Mitin Yu.A., Katsalukha V.V., Pastushenkov V.L., Pak N.V.

S. M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia

Цель исследования — оценить эффективность комбинированной терапии экспериментальной туберкулезной инфекции у белых мышей, зараженных лекарственно-устойчивым штаммом микобактерий человеческого типа, при сочетанном использовании химиопрепаратов и иммуномодулятора (ронколейкин).

Материалы и методы. Для инфицирования белых мышей использовали устойчивый к изониазиду (10 мкг/мл), рифампицину (40 мкг/мл) и стрептомицину (50 мкг/мл) клинический штамм № 5419 СПбНИИФ, выделенный от больного с впервые выявленным туберкулезом легких. Заражение проводили внутривенно, инфицирующая доза составила 0,5 мг сухой массы микобактерий. Терапию животных осуществляли по схеме: изониазид (25 мг/кг, подкожно) + амикацин (30 мг/кг, подкожно) + офлоксацин (20 мг/кг, внутрь) + этамбутол (50 мг/кг, внутрь). Продолжительность курса лечения — 6-7 недель. В соответствующих группах животных к базовой терапии добавляли ронколейкин (5 инъекций по 12,5 мкг/кг подкожно через день). Эффективность лечения оценивали по уровню выживаемости, средней продолжительности жизни, динамике массы тела животных.

Результаты. Установлено, что в условиях отсутствия супрессии иммунной системы инфекционный процесс характеризовался летальностью 91,7% инфицированных мышей (средний срок гибели — 25, 6 сут. после инфицирования). Назначение антибиотиков со-

проводилось снижением уровня летальности до 16,7%; гибель животных наступала позже (средний срок гибели мышей этой группы – 35,7 сут.). Введение ронколейкина (монорежим) также имело положительный эффект: летальность животных в этой группе снижалась на 33,3% по сравнению с контролем. Комбинированная терапия противотуберкулезными препаратами и ронколейкином оказалась эффективнее, чем лечение в виде монотерапии – летальность животных этой группы составила всего 4,2%; другие показатели (продолжительность жизни павших животных, масса тела) также возросли.

Заключение. При экспериментальной туберкулезной инфекции у белых мышей, зараженных лекарственно-устойчивым штаммом микобактерий, установлена большая эффективность комбинированной противотуберкулезной и иммунотерапии (ронколейкином).

Purpose of the study – to estimate the combined therapy efficiency of the experimental tuberculosis infection in white mice infected with drug-resistant strain of human type mycobacteria with the combined use of chemotherapy and immunomodulator (ronkoleykin).

Materials and methods. Clinical strain No. 5419 SPbNII, resistant to isoniazid (10 mg/ml), rifampicin (40 mg/ml) and streptomycin (50 mg/ml) isolated from the patient with newly diagnosed tuberculosis of lungs was used to infect white mice. Infection was made intravenously, the infecting dose has made 0,5 mg of dry mass of mycobacteria. Animals' therapy was carried out according to the scheme: isoniazid (25 mg/kg, subcutaneously) + amikacin (30 mg/kg, subcutaneously) + ofloxacin (20 mg/kg, perorally) + ethambutol (50 mg/kg, perorally). Duration of treatment – 6-7 weeks. In the relevant animals' groups ronkoleykin (5 injections of 12.5 mg / kg subcutaneously every other day) was added to the basic therapy. Treatment efficiency estimated on the level of survivability, average life expectancy, and dynamics of animal body weight.

Results. It is established that in the absence of immune system suppression the infectious process was characterized by lethality – 91,7% of the infected mice (average death time – 25, 6 days after infection). Antibiotics reduced the level of lethality to 16,7%; the animal death occurred later (average death time of mice in this group – 35,7 days). Introduction of ronkoleykin (monomode) also rendered a positive effect: the animal lethality in this group decreased by 33,3% in comparison with control. The combined therapy by antitubercular preparations and ronkoleykin was more effective, than treatment in the form of monotherapy – the animal lethality of this group has made only 4,2%; other indicators (life expectancy of the fallen animals, body weight) – also increased.

Conclusion. Considerable efficiency of combined antitubercular and immunotherapy (ronkoleykin) is established in experimental tuberculosis infection in white mice infected with the drug-resistant strain of mycobacteria.

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМБИНИРОВАННОЙ АНТИБИОТИКО- И ИММУНОТЕРАПИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОЙ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ У МЫШЕЙ, ВЫЗВАННОЙ ЛЕКАРСТВЕННО-УСТОЙЧИВЫМ ШТАММОМ МИКОБАКТЕРИЙ, НА ФОНЕ ИММУНОСУПРЕССИИ

Митин Ю.А., Кацалуха В.В., Пак Н.В.

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

CHARACTERISTIC OF CHANGES OF EFFICIENCY OF THE COMBINED ANTIBIOTICO- AND IMMUNOTHERAPY OF EXPERIMENTAL GENERALIZED TUBERCULOSIS INFECTION IN MICE CAUSED BY THE DRUG-RESISTANT STRAIN OF MYCOBACTERIA ON THE BACKGROUND OF IMMUNOSUPPRESSION

Mitin Yu.A., Katsalukha V. V., Pak N. V.

S. M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia

Цель исследования – оценить эффективность комбинированной терапии химиопрепаратами и иммуномодулятором (ронколейкином) экспериментальной туберкулезной инфекции у белых мышей, зараженных лекарственно-устойчивым штаммом микобактерий челове-

ческого типа.

Материалы и методы. Экспериментальные исследования проводили в течение 1,5 месяцев на белых неинбредных мышках-самцах массой 20-22 г. Для их заражения использовали чувствительный к основным туберкулостатикам штамм *M. bovis bovinus* 8; заражающая доза возбудителя при внутривенном введении составила 0,5 мг/0,2 мл/мышь. Иммунодефицитное состояние у мышей вызывали сублетальными дозами гамма-облучения либо гидрокортизоном. Терапию ронколейкином (12,5 мг/кг подкожно, через день, всего 5 инъекций) в монорежиме и в комбинации с изониазидом (10,0 мг/кг внутримышечно, ежедневно, в течение 30 суток) и рифампицином (10,0 мг/кг внутрь, ежедневно, 30 суток) начинали через 8 суток после заражения животных. Критериями эффективности лечения были уровень выживаемости, продолжительность жизни, динамика массы тела.

Результаты. Инфекционный процесс у иммуносупрессированных мышей протекал более тяжело: инкубационный период сокращался вдвое, гибель животных наступала на второй неделе после инфицирования. К исходу 15-х суток после заражения наблюдали 90-100% летальность (средний срок гибели – 12,8 сут.). При лучевой иммуносупрессии в группе животных, получавших лечение изониазидом и рифампицином, пало 60,8% мышей. При иммуносупрессии гидрокортизоном терапевтическая эффективность противотуберкулезных препаратов изониазида и рифампицина была снижена более чем на 40% по сравнению с соответствующим контролем. Назначение ронколейкина в монорежиме положительного эффекта не оказало – все животные пали (среднее время гибели – 24,7 сут.). В отличие от опытов с облучением, комбинированное применение ронколейкина и противотуберкулезных препаратов при туберкулезе у мышей, супрессированных гидрокортизоном, дало положительный результат – в этих группах летальность составила всего 18,75%, что на 37,5% ниже, чем при использовании одних антибиотиков.

Заключение. Иммуносупрессия оказывала отрицательное действие на эффективность терапевтического эффекта препарата ронколейкина при экспериментальной туберкулезной инфекции у белых мышей.

Purpose of the study – to estimate the combined therapy efficiency with chemotherapy and immunomodulator (ronkoleykin) of experimental tuberculosis infection in white mice infected with drug-resistant strains of human type mycobacteria.

Materials and methods. Experimental studies were carried out within 1.5 months on the white outbreeding mice-males weighing 20-22 g. Sensitive to basic tuberculostatics strain *M. bovis bovinus* 8 was used to infect mice; pathogen infecting dose, when administered intravenously has made 0.5 mg/0.2 ml/mouse. Immunodeficiency in mice was induced by sublethal doses of gamma-irradiation or hydrocortisone. Treatment with ronkoleykin (12.5 mg/kg subcutaneously every other day, 5 injections) in monomode and in combination with isoniazid (10.0 mg/kg intramuscularly, daily for 30 days) and rifampicin (10.0 mg/kg perorally daily, 30 days) was started 8 days after infection of animals. Criteria of treatment efficiency: the level of survivability, life expectancy, dynamics of body weight.

Results. Infectious process in immunosuppressed mice proceeded more hard: the incubation period was reduced by half, the animals' death occurred on the second week after infection. By the end of the 15th day after infection lethality – 90-100% (average death time – 12,8 days). In radiation immunosuppression in the animals' group treated with isoniazid and rifampicin, fell 60.8% of the mice. In immunosuppression induced by hydrocortisone therapeutic efficiency of antitubercular preparations (isoniazid and rifampicin) was decreased by more than 40% compared to the corresponding control. Ronkoleykin (monomode) had no positive effect – all animals fell (average death time – 24.7 days). In contrast to experiments with radiation, combined therapy by ronkoleykin and antitubercular preparations in tuberculosis in mice suppressed by hydrocortisone, gave a positive result – lethality in these groups was only 18.75% that is 37.5% lower than, when using only antibiotics.

Conclusion. Immunosuppression had a negative influence on the effectiveness of the therapeutic effect of ronkoleykin in experimental tuberculosis infection in white mice.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ АНТИГЕНОВ *ASPERGILLUS FLAVUS* НА РЕАКТИВНОСТЬ ИЗОЛИРОВАННЫХ СЕГМЕНТОВ ТОНКОЙ КИШКИ, СОДЕРЖАНИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ У ЖИВОТНЫХ

Митин Ю.А., Пастушенков В.Л., Углина О.А.

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

EXPERIMENTAL STUDY OF THE ANTIGENS OF *ASPERGILLUS FLAVUS* EFFECTS ON REACTIVITY OF ISOLATED SEGMENTS OF THE SMALL INTESTINE, CONTENT AND FUNCTIONAL ACTIVITY OF NEUTROPHILIC LEUKOCYTES IN ANIMALS

Mitin Yu.A., Pastushenkov V.L., Uglina O.A.

S. M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia

Цель исследования – экспериментальное изучение воздействия антигенов *Aspergillus flavus* (*Af*) на реактивность изолированных сегментов тонкой кишки, содержание и функциональную активность нейтрофильных лейкоцитов у животных.

Материалы и методы. В экспериментальных исследованиях использовали штамм *A. flavus* F-1118, выделенный в лаборатории «Российская коллекция патогенных грибов» НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина. Экспериментальные исследования проводили на 76 (47 опытных 29 контрольных) кроликах породы Шиншилла массой от 2,8 до 3,0 кг. Длительность наблюдения за животными составила 16 недель. С целью исключения воздействия на животных токсических метаболитов, выделение антигенов из среды выполняли только с 1 по 7 день роста грибов. Для выявления антигенной активности *Af* использовали ежедневное введение фильтрата *Af* в ротовую полость животных, а в изолированные лигатурами сегменты тонкой кишки кроликов вводили взвесь, а также фильтрат грибов, полученный из среды Сабурова после выращивания на ней *Af*.

Результаты. При ежедневном введении фильтрата *Af* в ротовую полость животных, через 1 неделю отмечали развитие абсолютной лейкопении: содержание лейкоцитов у животных опытной группы составило $2,7 \pm 0,10 \cdot 10^9$ против $7,9 \pm 0,11 \cdot 10^9$ у животных контрольной группы. Индекс созревания нейтрофилов у животных опытной группы в течение всего времени эксперимента был достоверно снижен. Максимальное снижение наблюдали на 3 месяц эксперимента ($0,37 \pm 0,05$ у.е. у животных опытной группы и $0,76 \pm 0,04$ у.е. – у животных контрольной группы). Показатель базальной фагоцитарной активности у животных опытной группы в начале эксперимента был достоверно снижен ($13,8 \pm 1,6\%$), однако к исходу 8 недели эксперимента он вырос ($30,4 \pm 2,13\%$), достигнув значений, достоверно не различающихся с аналогичным показателем контрольной группы ($32,0 \pm 1,4\%$). В эксперименте воздействовали на изолированные лигатурами сегменты тонкой кишки кроликов фильтратами грибов *Af*, выделенных от здоровых и больных острой дизентерией детей. Из 45 штаммов, 19 – вызывали резко положительную, 16 – положительную, 10 – отрицательную реакцию тканей.

Заключение. Экспериментально подтверждено патогенетическое значение воздействия антигенов *A. flavus* на состояние внутренних органов и тканей, в частности тонкой кишки, содержание и уровень функциональной активности нейтрофильных лейкоцитов у животных.

Purpose of the study – experimental study of impact *Aspergillus flavus* (*Af*) antigens on reactivity of small intestine isolated segments, content and functional activity of neutrophilic leukocytes in animals.

Materials and methods. In experimental studies *A. flavus* F-1118 strain isolated in the laboratory “Russian collection pathogenic fungi” of Research Institute of Medical Mycology named after P.N. Kashkin was used. Experimental studies were carried out on 76 (47 experimental and 29 control) rabbits of Chinchilla breed weighing from 2,8 to 3,0 kg. Duration of observation has made 16 weeks. The selection of antigens from the medium was carried out only from 1 to 7 days of fungal growth to exclude the toxic metabolites' impact. To detect *Af* antigenic activity daily administration of *Af* filtrate into the animals' oral cavity was used, the slurry and also the fungus filtrate obtained as a result of *Af* cultivation

on Sabouraud were injected into small intestine' segments isolated by ligatures.

Results. At daily administration of *Af* filtrate into the animals' oral cavity, the development of absolute leukopenia was noted after 1 week: leukocytes' concentration in animals of experimental group made $2,7 \pm 0,10 \cdot 10^9$ against $7,9 \pm 0,11 \cdot 10^9$ in control group. The index of neutrophils' maturation in experimental group was authentically lowered during all time. The maximum decrease was observed for the 3rd month of experiment ($0,37 \pm 0,05$ c.u. in experimental animals and $0,76 \pm 0,04$ c.u. – in control animals). The indicator of basal phagocytic activity in experimental animals was authentically lowered ($13,8 \pm 1,6\%$) at the beginning of experiment, however, by the outcome of the 8th week it grew up ($30,4 \pm 2,13\%$), having reached the values which are authentically not differing with that of control group ($32,0 \pm 1,4\%$). In experiment we impacted on rabbits' segments of a small intestine isolated by ligatures with filtrates of micromycetes *Af*, selected from healthy and sick children suffering from acute dysentery. Out of 45 strains, 19 – caused sharply positive, 16 – positive, 10 – negative reaction of tissues.

Conclusion. Pathogenetic value of *A. flavus* antigens' impact on the state of internals and tissues, in particular a small intestine, the content and level of functional activity of neutrophilic leukocytes in animals was experimentally confirmed.

ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ, ИЗМЕНЕНИЙ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ДЕТЕЙ БОЛЬНЫХ ОСТРОЙ ДИЗЕНТЕРИЕЙ, ИМЕВШИХ КОЛОНИЗАЦИЮ КИШЕЧНИКА ГРИБАМИ *ASPERGILLUS FLAVUS*

Митин Ю.А., Пастушенков В.Л., Углина О.А.

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

FEATURES OF CLINICAL COURSE, OF CHANGES IN IMMUNE SYSTEM IN CHILDREN WITH ACUTE DYSENTERY AND INTESTINAL COLONIZATION WITH *ASPERGILLUS FLAVUS*

Mitin Yu.A., Pastushenkov V.L., Uglina O.A.

S. M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia

Цель исследования – оценить особенности клинического течения, состава микробиоты кишечника, изменений иммунной системы у детей больных острой дизентерией средней степени тяжести, с колонизацией кишечника грибами *Aspergillus flavus*.

Материалы и методы. Провели клинко-иммунологическое обследование 212 детей (возраст – 7-14 лет), больных острой дизентерией средней степени тяжести, вызванной преимущественно *Shigella flexneri* (серовар 2a). Диагноз заболевания устанавливали на основании клинко-эпидемиологических и лабораторных данных.

Результаты. При анализе клинического течения острой дизентерии средней степени тяжести у обследованных выявили, что у пациентов без колонизации кишечника *A. flavus* заболевание в 93% случаях протекало по типичному колитическому варианту, в то же время у детей, имевших колонизацию кишечника этими грибами, колитический вариант отмечали в 32% случаев, а в 68% случаев (т.е. более чем в 9 раз чаще) наблюдали гастроэнтероколитический вариант течения заболевания, замедлялась инволюция симптомов интоксикации, нормализации частоты и характера стула. В результате лабораторных исследований установлено, что у больных острой дизентерией с колонизацией *A. flavus*, на фоне снижения содержания нормальной микробиоты кишечника (бифидо- и лактобактерий, бактериоидов) и возрастания количества условно-патогенных микроорганизмов (*Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*), достоверно снижались соотношение CD4+/CD8+ лимфоцитов, уменьшалось содержание CD20+ субпопуляции лимфоцитов и концентрация в сыворотке крови C3 компонента комплемента, возрастал уровень ЦИК.

Выводы. У больных острой дизентерией средней степени тяжести, имевших колонизацию кишечника *A. flavus*, выявлена большая продолжительность острого периода и более частая реализация гастроэнтероколитического варианта течения заболевания, нарушения состава микробиоты кишечника (снижение уровня бифидо- и лактобактерий, бактериоидов), возрастание количества условно-патогенных микроорганизмов (*Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*). К

особенностям изменений иммунной системы относились: достоверное снижение соотношения CD4+/CD8+ лимфоцитов, уменьшение содержания CD20+ лимфоцитов и концентрации в сыворотке крови C3 компонента комплекса, возрастание уровня циркулирующих иммунных комплексов.

Purpose of the study – to estimate the clinical course features, intestinal microbiota composition, changes in immune system in children with acute dysentery of moderate severity, with intestinal colonization by *Aspergillus flavus*.

Materials and methods. Clinical and immunological study of 212 children (age - 7-14 years) suffering from acute dysentery of moderate severity caused mainly by *Shigella flexneri* (serovar 2a) was conducted. The diagnosis was based on clinical, epidemiological and laboratory data.

Results. When analyzing the clinical course of acute dysentery of moderate severity it was found that in patients without intestinal colonization with *A. flavus* the disease in 93% of cases was typical for colitis variant. However, in children with intestinal colonization by these fungi, colitis variant was noted in 32% cases and in 68% cases (more than by 9 times more often) gastroenterocolitis variant of the disease course was observed, the involution of such symptoms as intoxication, normalization of frequency and character of stool slowed down. Laboratory studies revealed that in patients with acute dysentery with *A. flavus* colonization the ratio of CD4 + / CD8 + lymphocytes, content of CD20 + lymphocyte subpopulation and C3 complement concentration in serum authentically decreased, the level of CIC increased. These changes occurred on the background of the normal intestinal microbiota reduction (bifido- and lactobacterium, bacteroides) and the growing number of opportunistic pathogens (*Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*).

Conclusions. Patients with acute dysentery of moderate severity with intestinal colonization by *A. flavus* have shown long duration of the acute period and more frequent realization of gastroenterocolitis variant in the disease course, violation of intestinal microbiota (decline in bifido- and lactobacterium, bacteroides), increase of opportunistic pathogens (*Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*). Features of changes in immune system included: reliable decrease in the ratio of CD4 + / CD8 + lymphocytes, decrease in CD20 + lymphocytes and in C3 complement serum concentration, the level increase of CIC.

ИММУНОПАТОГЕНЕЗ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С У ЛИЦ РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП

Митин Ю.А., Никитин В.Ю., Сухина И.А.

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

THE IMMUNOPATHOGENESIS OF CHRONIC HEPATITIS C IN PERSONS OF DIFFERENT AGE GROUPS

Mitin Yu.A., Nikitin, V.Yu., Sukhina I.A.

S. M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia

Цель – провели иммунологическое обследование больных хроническим гепатитом С (ХГС) для выявления особенностей иммунопатогенеза.

Материалы и методы. Клинико-иммунологическое обследование прошли 145 лиц в возрасте от 18 до 59 лет (средний – 32,4±0,52 года). Предполагаемая длительность инфицирования была определена у 73 человек, находясь в пределах от 6 месяцев до 10 лет, в среднем, составив 2,1±0,2 года. Обследуемые лица, в соответствии с возрастными категориями по классификации Чеботарева Д.Ф и Маньковского Н.Б. (1990), были разделены на 3 группы: 1 группа – 69 лиц молодого возраста (18-29 лет), 2 группа – 45 лиц среднего возраста (30-44 лет) и 3 группа – 31 лицо в возрасте 45-59 лет. Средний возраст обследуемых лиц составил: в 1 группе – 20,3±0,2 года, во 2-ой – 37,3±0,7 лет, в 3-ей – 51,6 ±1,3 года.

Результаты. Относительное содержание CD3+ лимфоцитов, других субпопуляций – Т-лимфоцитов (CD3+CD4+), (CD3+CD8+), а также соотношения этих субпопуляций Т-лимфоцитов (CD3+CD4+/CD3+CD8+), у большинства больных ХГС различных возрастных групп находилось в пределах нормы, при этом не отмечали достоверных различий между больными ХГС различных возрастных групп. Определяли содержание субпопуляции Т-киллеров (CD3+CD56+), позитивных по CD56 молекуле, продуцентов ФНО-α и ИФН-γ. Установили, что относительное содержание CD3+CD56+ у

больных ХГС различных возрастных групп достоверно различалось. Минимальное содержание Т-лимфоцитов киллеров (CD3+CD56+) наблюдали у больных ХГС молодого возраста (18-29 лет). Достоверно более высоким содержанием Т-лимфоцитов-киллеров (CD3+CD56+) было у больных 2 группы; ещё более высоким – у пациентов 3 группы, достоверно отличаясь от аналогичного показателя лиц молодого возраста.

Заключение. При исследовании особенностей изменений иммунной системы у больных ХГС различных возрастных групп установили, что для больных ХГС молодого возраста характерен меньший уровень изменений в содержании Т-лимфоцитов-киллеров (CD3+CD56+). Наибольшие достоверные изменения данного показателя свойственны больным ХГС старших возрастных групп.

Purpose – immunological study in patients with chronic hepatitis C (CHC) to identify features of immunopathogenesis.

Materials and methods. Clinical and immunological examination passed 145 persons aged 18 to 59 years (mean - 32.4 ± 0.52 years). The estimated duration of infection was determined in 73 people, being in the range from 6 months to 10 years, on average, made 2.1 ± 0.2 years. The examined persons, according to age categories as classified by Chebotarev D.F and Mankovsky N. B. (1990), were divided into 3 groups: group 1 – 69 young adults (18-29 years), group 2 – 45 middle-aged (30-44 years) and group 3 – 31 persons aged 45-59 years. The average age of the examined persons made: in the 1st group – 20.3±0.2 years, in the 2nd – 37.3±0.7 years, in the 3rd – 51.6 ±1.3 years.

Results. The relative content of CD3 + lymphocytes, other subpopulations – T-lymphocytes (CD3 + CD4 +), (CD3 + CD8 +), and the ratio of these subpopulations of T lymphocytes (CD3 + CD4 + / CD3 + CD8 +) were within the normal range in the majority CHC patients of different age groups, with no significant differences between CHC patients of various age groups. The content of T-killer cells (CD3 + CD56 +) subpopulation, positive for CD56 molecule, producers of TNF-α and IFN-γ was determined. It was found that the relative content of CD3 + CD56 + in CHC patients of different age groups differed significantly. The minimum content of T-killer cells (CD3 + CD56 +) was observed in CHC patients of young age (18-29 years). Significantly higher content of T-killer cells (CD3 + CD56 +) was in group 2; even higher – in patients of group 3. This indicator was significantly different from that of young adults.

Conclusion. In the study of features of the immune system changes in CHC patients of various age groups it was found that a lower level of changes in the content of T-killer cells (CD3 + CD56 +) is typical for young CHC patients. The largest authentic changes of this indicator are peculiar to HCV patients in older age groups.

УСЛОВНО-ПАТОГЕННАЯ МИКРОБИОТА РАЗЛИЧНЫХ БИОТОПОВ У НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

Михайлова Е.С., Самоукина А.М.

Тверская государственная медицинская академия МЗ РФ, Тверь, Россия

CONDITIONALLY-PATHOGENIC MICROBIOTA OF DIFFERENT HABITATS IN PRETERM INFANTS

Mikhailova E.S., Samoukina A.M.

Tver State Medical Academy, Tver, Russia

В последние годы в структуре диагнозов у недоношенных детей удельный вес инфекционной патологии, обусловленной условно-патогенной микробиотой (УПМ), приближается к 80%.

Цель работы – определение спектра УПМ в различных биотопах у недоношенных новорожденных.

Материалы и методы. Провели бактериологическое исследование материала из зева, слизистой оболочки глаз, мочи, содержимого желудка и кала у 50 недоношенных новорожденных (26 мальчиков, 24 девочки) первого месяца жизни на базе ФГУ «Центр госсанэпиднадзора в Тверской области» в соответствии с нормативными документами.

Результаты. Выявили широкий спектр УПМ. На первом месте по частоте встречаемости были представители рода *Staphylococcus* – 62% случаев, из них *S. epidermidis* – 45,2%, *S. haemolyticus* – 38,6%, *S. saprophyticus* – 9,7%, *S. aureus* – 6, % и дрожжеподобные грибы рода *Candida* – 52% (*C. albicans* – 69,2%, *C. glabrata* – 30,8%). На втором месте – представители рода *Acinetobacter* – 16% случаев, из них

A. calcoaceticus и *A. haemolyticus* – 37,5%, а *A. iwoffii* и *A. baumannii* – 12,5%. На третьем месте – представители рода *Klebsiella* – 12% случаев, из них *K. pneumoniae* – 66,7%, а *K. oxytoca* и *K. rhinosclerotomatis* – 16,7%. Представители родов *Candida*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Enterococcus* и *Streptococcus* обнаруживали в 8-10% случаев. Кроме того, в 25% случаев были выделены различные ассоциации представителей УПМ, количество микроорганизмов в ассоциациях колебалось от 2 до 4.

У 28 (56%) новорожденных в различных биотопах отмечали одних и тех же представителей УПМ. В 52% случаев в кале обнаружили *Candida* spp. и в 46% – мицелий гриба. Отметим, что в 6% случаев представители рода *Staphylococcus* (*S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus*) были выделены из крови новорожденных.

Выводы. У недоношенных новорожденных из различных биотопов выделен широкий спектр УПМ, наиболее часто выявляли представителей родов *Staphylococcus*, *Acinetobacter* и *Klebsiella*. Микробиологические изменения в различных биотопах тесно взаимосвязаны между собой и проявляются в выделении идентичных микроорганизмов.

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЕМОМ В ДИАГНОСТИКЕ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРИХОМОНОЗА У ЖЕНЩИН

Морева Ж.Г.¹, Васильев М.М.²

¹ Ивановская государственная медицинская академия Иваново;

² ГИЦ дерматовенерологии и косметологии Росмедтехнологий, Москва, Россия

FEATURES OF MICROBIOLOGICAL WAYS IN DIAGNOSIS OF UROGENITAL TRICHOMONIASIS IN WOMEN

Moreva Zh.G.¹, Vasiliev M.M.²

Ivanovo State Medical Academy Ivanovo; State Research Centre of Dermatovenereology Moscow, Russia

Цель работы – оценить особенности микробиологической диагностики урогенитального трихомоноза у женщин.

Материалы, методы и результаты. Проведено обследование 61 женщины в возрасте 18-52 года (средний – 35,6 лет) на выявление *Trichomonas vaginalis* различными лабораторными методами.

Первый этап микробиологического метода для диагностики трихомоноза – микроскопическое исследование нативных и окрашенных препаратов, взятых у женщин из цервикального канала и влагалища. Трудностью диагностики на этом этапе является сходство трихомонад с клеточными элементами мазка, в частности, при выраженном полиморфизме возбудителя, амебоидные клетки сходны с базальным эпителием, а округлые формы – с лейкоцитами. При наиболее информативном микроскопическом приеме – просмотре нативных препаратов, учитывая морфологию и подвижность, *T. vaginalis* была выявлена в 62,29% случаев. Путем микроскопического анализа препаратов, окрашенных по Граму, для оценки выраженности дисбиоза влагалища и наличия лейкоцитоза в мазках, окрашенных по Романовскому-Гимзе, трихомонады обнаруживали в 49,18% случаев. Второй этап микробиологического метода – культуральное исследование. Известно, что трихомонады трудно культивировать на питательных средах. Для выделения чистой культуры трихомонад необходимо проведение посева клинического материала на жидкую питательную среду с антибиотиками. Мы использовали среду Вагикульт, но ростовые свойства ее низкие. Далее проводят пересев на богатые среды без антибиотиков, например, на среду Джонсона-Трасселя. Используя данный прием, трихомонады отмечали в 78,69% случаев. При наличии неподвижных трихомонад, культуры идентифицируют методом непрямой РИФ, что нами было подтверждено во всех случаях. Методом ПЦР идентифицировали типичные культуры трихомонад в 83,16% случаев, но при выделении возбудителя из клинического материала – только в 14,75%.

Заключение. Для диагностики трихомоноза необходимо использовать микробиологический метод. Экспресс-методы диагностики – непрямая РИФ и ПЦР являются подтверждающими методами. Применение только одного метода ПЦР для выявления трихомоноза не дает возможности диагностировать все случаи этой инфекции.

The purpose of the study is to evaluate the features of microbiological diagnosis of urogenital trichomoniasis in women.

Materials, methods and results. In this study, 61 women aged 18-52 years (mean 35.6 years) were examined for *Trichomonas vaginalis* by different laboratory methods. The first stage of the microbiological method for diagnosing trichomoniasis is a microscopic examination of native and stained preparations taken from the cervix and the vagina. The difficulty of diagnosis at this stage is the similarity of *T. vaginalis* with cellular elements of the vaginal smear, in particular, in case of the marked polymorphism of the pathogen, the amoeboid cells are similar to the basal epithelium, and the rounded shapes are similar to the leukocytes. When using the most informative microscopic method of studying native preparations in view of morphology and motility, *T. vaginalis* was detected in 62.29% of cases. During microscopic examination of Gram stained preparations to assess the expressiveness and the presence of vaginal dysbiosis and leukocytosis, and also of the smears stained according to Romanowsky-Giemsa method, *T. vaginalis* was detected in 49.18% of cases. The second stage of the microbiological method is the investigation of cultures. It is known that *T. vaginalis* is difficult to grow in culture media. To isolate a pure culture of *T. vaginalis* it is necessary to cultivate the clinical material in a liquid medium with antibiotics. We used Vagicult medium, but its growth properties are low. Further passaging is performed in rich medium without antibiotics, for example, in Johnson's and Trussell's medium. This method enabled us to detect *T. vaginalis* in 78.69% of cases. If there is a motionless *T. vaginalis*, the culture is identified by indirect immunofluorescence test (IIFT). This fact was confirmed by us in all cases. PCR method identified the typical cultures of *T. vaginalis* in 83.16% of cases, but in case of pathogen isolation from the clinical material it was only 14.75%.

Conclusion. For the diagnosis of trichomoniasis it is necessary to use a microbiological method. Rapid diagnostic methods such as IIFT and PCR methods are confirmatory. When used alone for the identification of trichomoniasis, the PCR method does not enable us to diagnose all cases of this infection.

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МЕТАЛЛООРГАНИЧЕСКИХ КАРКАСНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

¹Найденко Е.В., ²Гарасько Е.В., ¹Смирнова Д.Ю., ¹Макаров С.В.

¹Ивановский государственный химико-технологический университет; ²Ивановская государственная медицинская академия, Иваново, Россия

STUDY OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF METAL-ORGANIC FRAMEWORKS

¹Naydenko E.V., ²Garas'ko E.V., ¹Smirnova D.I., ¹Makarov S.V.

¹Ivanovo State University of Chemistry and Technology, ²Ivanovo State Medical Academy, Ivanovo, Russia

Одними из перспективных кандидатов на создание нового класса антибактериальных средств являются металлоорганические каркасные соединения (МОКС). Биологическая активность МОКС зависит от их физико-химических свойств.

Цель работы – исследование антибактериальной активности и физико-химических параметров титан-, алюмо- и цинксодержащих каркасных соединения (Ti-, Al- и Zn-МОКС) на основе терефталевой кислоты. Изучаемые соединения охарактеризованы с использованием широкого круга физико-химических методов (электронной микроскопии, рентгенофазового и термogravиметрического анализов, ИК-спектроскопии). Установлено, что Ti- и Al-МОКС состоят из достаточно однородных наночастиц, размер которых составляет ≈ 80-100 нм. Цинковый комплекс характеризуется большими размерами частиц и имеет слоистую структуру.

Материалы и методы. Изучение антибактериальной активности Ti-, Al- и Zn-МОКС проводили на штаммах фирмиклутных (стафилококк) и грациликлутных микроорганизмов (кишечная палочка), а также на эукариотических клетках (*Candida* spp.) как на плотных средах (ЖСА, Эндо, Сабуро), так и на жидких средах (МПБ) с последующим высевом на плотную среду.

Результаты. Представленные образцы МОКС, вне зависимости от концентрации, показали задержку роста как на жидких средах, так и на плотных питательных средах, что подтвердили результаты высева.

Заключение. Установлено, что характер влияния каркасных соединений на рост штаммов микроорганизмов и выраженность анти-

бактериального эффекта зависят от вида МОКС. Показано, что металлоорганические каркасные соединения можно использовать в качестве антибактериальных агентов.

One of the most promising candidates for the creation of a new class of antibacterial agents are metal-organic frameworks (MOFs). The biological activity of the MOFs depends on their physico-chemical properties.

The purpose was to study the antibacterial activity and physico-chemical properties of titanium-, aluminum-, and zinc-containing metal-organic frameworks (Ti-, Al- and Zn-MOFs) based on terephthalic acid. Studied compounds were characterized using a wide range of physical and chemical methods (electron microscopy, X-ray diffraction and thermogravimetric analysis, IR spectroscopy). It has been established that the Ti- and Al-MOFs consist of sufficiently uniform nanoparticles, whose size is \approx 80-100 nm. Zinc complex is characterized by large particle sizes and has a layered structure.

Materials and methods. Study of antibacterial activity of Ti-, Al- and Zn-MOFs was performed on firmicutes (*Staphylococcus aureus*) and gracilicutes (*E. coli*), as well as on eukaryotic cells (*Candida spp.*) on solid (VSA, Endo, Sabouraud) and liquid media (BEA) followed by seeding on solid medium.

Results. Independently on concentration, MOFs examples exhibit a retardation of growth on liquid and solid media that was shown by seeding results.

Conclusion. It was found that the effect of MOFs on the growth of microorganisms and strong antibacterial effect depends on their type. It was shown that MOFs can be used as antibacterial agents.

БАКТЕРИЦИДНЫЕ И ФУНГИЦИДНЫЕ СВОЙСТВА МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПИЩЕВЫХ ПЛЕНОК С НАНОСЛОЯМИ СЕРЕБРА

¹Найденко Е.В., ¹Горберг Б.Л., ¹Ерова М.И., ²Гарасько Е.В., ¹Макаров С.В.

¹Ивановский государственный химико-технологический университет; ²Ивановская государственная медицинская академия, Иваново, Россия

BACTERICIDAL AND FUNGICIDE PROPERTIES OF THE MODIFIED FOOD FILMS WITH SILVER NANOLAYERS

¹Naydenko E.V., ¹Gorberg B.L., ¹Erova M.I., ²Garas'ko E.V., ¹Makarov S.V.

¹Ivanovo State University of Chemistry and Technology, ²Ivanovo State Medical Academy, Ivanovo, Russia

Известно, что продукты питания часто подвержены воздействию микроорганизмов, которые могут изменять натуральные свойства сырья и продуктов, приводя к ухудшению их качества. Наиболее перспективным направлением повышения сроков хранения продовольственных товаров считают использование специальных упаковочных материалов, способных защитить продукт от негативных факторов внешней среды, а также снизить скорость микробиологической порчи. Одним из таких материалов является модифицированная пищевая пленка с нанослоями серебра. Препараты на основе серебра обладают бактерицидным, противовирусным, ярко выраженным противогрибковым и антисептическим действием и служат эффективным обеззараживающим средством по отношению к патогенным микроорганизмам, вызывающим острые инфекции.

Цель – исследовать бактерицидные и фунгицидные свойства модифицированных пищевых пленок с нанослоями серебра.

Материалы и методы. Для получения модифицированных пищевых пленок с нанослоями серебра применяли метод магнетронного распыления. Изучали бактерицидные и фунгицидные свойства модифицированных пленок на плотных и жидких питательных средах по общепринятой методике с использованием в качестве тест-организмов клеток бактерий *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Candida spp.*

Результаты. Под образцами модифицированных пленок обнаружили полное отсутствие роста тест-организмов.

Заключение. Установлено, что модифицированные пищевые пленки с нанослоями серебра обладают бактерицидными и фунгицидными свойствами в отношении тест-организмов. Полученные результаты могут служить основой для возможного применения этих

пленок в пищевой промышленности.

It is known that food products are often exposed to microorganisms that can modify their natural properties and lead to a deterioration of their quality. The most promising way to increase period of storage of food products is considered the use of special packaging materials that can protect the product from the adverse environmental factors, as well as reduce the rate of microbial spoilage. One of such the materials is a modified food silver film with nanolayers. The preparations based on silver have bactericidal, antiviral, antifungal and pronounced antiseptic action and serve as the effective disinfectants against pathogenic microorganisms that cause acute infections.

The goal. Investigation of the bactericidal and fungicidal properties of modified food films with silver nanolayers.

Materials and methods. Magnetron sputtering was applied for preparation of modified food films with silver nanolayers. The bactericidal and fungicidal properties of the modified films on dense and liquid media were examined by the conventional method using the bacterial cells *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida spp.* as the test-organisms

Results. Samples under modified films revealed a complete absence of growth of the test organisms.

Conclusion. It was found that the modified food film silver with nanolayers have bactericidal and fungicidal properties for test-organisms. The obtained results provide a basis for the possible use of these films in food industry.

ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННЫЕ СРЕПТОКОККАМИ СЕРОГРУППЫ В, У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН, РОДИЛЬНИЦ И НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

Наумкина Е.В., Абросимова О.А.

Городской клинический перинатальный центр Омской государственной медицинской академии, Омск, Россия

INFECTIONS CAUSED BY GROUP B STREPTOCOCCUS IN PREGNANT, POSTPARTUM WOMEN AND NEWBORNS

Naumkina E.V., Abrosimova O.A.

City Clinical Perinatal Center of the Omsk State Medical Academy, Omsk, Russia

Цель – изучение распространенности стрептококков группы В у различных категорий женщин (этап прегравидарной подготовки, беременные и родильницы) и новорожденных, переведенных на второй этап выхаживания.

Материалы и методы. Провели анализ микробиоты, выделенной от 1898 небеременных женщин, 6550 беременных и родильниц, а также 1334 новорожденных второго этапа выхаживания.

Результаты. Среди небеременных женщин носительство стрептококков группы В отмечали у 8,1% пациенток. При этом в 5,9% случаев стрептококки выделяли в составе полимикробных ассоциаций с факультативно-анаэробными микроорганизмами (3,2%), *Gardnerella vaginalis* и другими ассоциантами бактериального вагиноза (1,8%), *Candida* (0,9%).

Высеваемость стрептококков группы В при обследовании беременных и родильниц за 2010-2014 гг. составила 5,7%, 4,8%, 6,8%, 6,3%, 6,7% соответственно. Умеренную и высокую степень обсемененности (10^5 и выше КОЕ/мл) выявляли в половине случаев; у 34% пациенток стрептококки группы В входили в состав ассоциаций с различными условно-патогенными микроорганизмами.

В микробиоте клинического материала от новорожденных второго этапа выхаживания стрептококки группы В по отделению реанимации и интенсивной терапии новорожденных высевали в 4,8% от числа обследованных детей и в 10,1% – от числа выделенных микроорганизмов, причем в большинстве случаев наблюдали высеивание этих возбудителей из трахеобронхиальных смывов и крови.

Заключение. Распространенность носительства стрептококков серогруппы В в половых путях женщин репродуктивного возраста на территории г. Омска составляет 6-8% и не имеет тенденции к снижению в течение последних 4 лет. Относительно высокая частота реализации инфекционного потенциала возбудителя у новорожденных детей группы риска требует внимания к вопросам диагностики носительства стрептококка группы В у беременных, включения этого вида исследования в стандарты наблюдения для этой категории

пациенток с целью своевременной санации, а также создания и совершенствования стандартов лабораторного исследования на этот возбудитель.

The goal - to examine the prevalence of group B *Streptococcus* in various categories of women (pregnancy preparation, pregnant and postpartum women) and newborns transferred to the second stage of nursing.

Materials and methods. Conducted an analysis of the microbiota isolated from non-pregnant women in 1898, 6550 of pregnant women and newborns in 1334 the second phase of nursing.

Results. Among non-pregnant women carriers of group B *Streptococcus* was observed in 8.1% of patients. Thus 5.9% of the composition streptococci isolated in association with polymicrobial facultative anaerobes (3.2%), *Gardnerella vaginalis* and other bacterial vaginosis associants (1.8%), *Candida* (0.9%).

The frequency of occurrence of group B *Streptococcus* during screening of pregnant women for the 2010-2014 was 5.7%, 4.8%, 6.8%, 6.3% and 6.7% respectively. Moderate and high degree of contamination (10^5 and higher CFU / ml) were detected in half of the cases; in 34% of patients with group B *Streptococcus* is member of associations with various opportunistic pathogens.

In microbiota of the clinical material from the second stage of neonatal nursing group B streptococci in the department of intensive care and neonatal intensive care were seeded in 4.8% of the children surveyed and 10.1% - the number of isolated microorganisms, and in most cases observed seeding of these pathogens tracheobronchial lavage and blood.

Conclusion. The prevalence of serogroup B streptococcus carriage in the genital tract of women of reproductive age in the city of Omsk is 6-8% and has no downward trend over the past 4 years. The relatively high frequency of implementation capacity of the pathogen infection in newborn infants at risk requires attention to the diagnosis of carriage of group B streptococci in pregnant women, the inclusion of this type of research in the observation standards for this category of patients for the purpose of timely rehabilitation, as well as establishing and improving standards of laboratory research on this pathogen.

МИКРОБИОТА ОТДЕЛЯЕМОГО ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ НОВОРОЖДЕННЫХ ОТДЕЛЕНИЯ РЕАНИМАЦИИ И ИНТЕНСИВНОЙ ТЕРАПИИ

Наумкина Е.В., Пядочкина Т.В.

Городской клинический перинатальный центр Омской государственной медицинской академии, Омск, Россия

RESPIRATORY TRACT MICROBIOTA OF NEWBORNS IN INTENSIVE CARE UNIT

Naumkina E.V., Pyadochkina T.V.

City Clinical Perinatal Center of the Omsk State Medical Academy, Omsk, Russia

Цель – изучение результатов бактериологического исследования мокроты (трахеобронхиальных смывов) пациентов ОПИТ педиатрического стационара.

Материалы и методы. Провели бактериологическое исследование 1024 образцов мокроты, полученных за период 2010- 2012 гг.

Результаты. Доля положительных находок составила 68,55%, грамположительные микроорганизмы высевали в 63,24%, грамотрицательные – в 36,76%. Среди грамположительных микроорганизмов лидирующее место занимали коагулазонегативные стафилококки – 59,23%, на втором месте группа энтерококков – 23,77%. *Staphylococcus aureus* из образцов мокроты выделяли в 6,58% случаев, *Streptococcus pneumoniae* – в 1,28%. Среди грамотрицательных микроорганизмов первое место занимали представители *Enterobacteriaceae* – 52,83%, большую часть из которых составили *Klebsiella pneumoniae* – 30,82%. Неферментирующие грамотрицательные бактерии оказались на втором месте – 46,54%, среди них лидировали *Pseudomonas aeruginosa* – 17,92%. *Haemophilus influenzae* составил лишь 0,63% от всех выделенных грамотрицательных микроорганизмов.

При изучении антибиотикорезистентности выделенных микроорганизмов выявили, что доля метициллин-резистентных коагулазонегативных стафилококков составляет 75,56%. Большинство штаммов *K. pneumoniae* (87%) обладали бета-лактамазами расширенного спектра (БЛРС), 37,74% штаммов *P. aeruginosa* были резистентны к

аминогликозидам, 46,51% – к фторхинолонам, 43,64% – к карбапенемам.

Заключение. Среди возбудителей инфекций дыхательных путей у новорожденных ОПИТ педиатрического стационара преобладали грамположительные микроорганизмы (преимущественно коагулазонегативные стафилококки), среди грамотрицательных – *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*. Все виды возбудителей в большинстве случаев обладали маркерами антибиотикорезистентности к пенициллинам и цефалоспорином, среди штаммов синегнойной палочки распространена устойчивость к аминогликозидам, фторхинолонам и карбапенемам. Полученные данные об этиологической структуре инфекционных процессов верхних дыхательных путей, а также широкой распространенности антибиотикорезистентности среди основных патогенов, необходимо учитывать при разработке программ стартовой эмпирической противомикробной терапии для этой категории пациентов.

The goal - to study the results of bacteriological examination of sputum (tracheobronchial washings) ICU patients of pediatric hospital.

Materials and methods. Bacteriological research conducted in 1024 sputum samples obtained during the period 2010- 2012.

Results. The proportion of positive findings was 68.55%, Gram-positive bacteria were seeded in 63.24%, Gram-negative - at 36.76%. Among Gram-positive microorganisms leader takes coagulase-negative staphylococci - 59.23%, followed by a group of enterococci - 23.77%. *S. aureus* was isolated from sputum samples in 6.58% of cases, *S. pneumoniae* – in 1.28%. Among Gram-negative organisms first place occupied by *Enterobacteriaceae* - 52.83%, most of which were *K. pneumoniae* - 30.82%. Non-fermentative Gram-negative bacteria were in the second place - 46.54% of them were *P. aeruginosa* - 17.92%. *H. influenzae* was only 0.63% of all the selected negative microorganisms.

The study of antibiotic resistance of isolated microorganisms showed that the proportion of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci was 75.56%. Most strains of *K. pneumoniae* (87%) had a beta-lactamase extended spectrum (ESBL), 37.74% *P. aeruginosa* strains were resistant to aminoglycosides, 46.51% - to fluoroquinolones, 43.64% - to carbapenems.

Conclusion. Among respiratory pathogens in the newborn ICU pediatric hospital prevailed Gram-positive microorganisms (mainly coagulase-negative staphylococci), among Gram-negative *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa*. All types of pathogens in most cases had antibiotic resistance to aminoglycosides, fluoroquinolones and carbapenems. The data on the etiological structure of infectious processes of the upper respiratory tract, as well as the prevalence of antibiotic resistance among the major pathogens, must be considered when resistance markers to penicillins and cephalosporins, including *P. aeruginosa* strain developing programs of empirical antimicrobial therapy for these patients.

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОТЫ НОСОГЛОТКИ У ЧАСТО БОЛЕЮЩИХ ДЕТЕЙ, ПОЛУЧАВШИХ ТОПИЧЕСКИЕ КОРТИКОСТЕРОИДЫ

Нестерова А.А.¹, Нестерова К.И.¹, Нестеров И.А.²

¹ Омская государственная медицинская академия; ² Больница Научного центра Российской академии наук, Черноголовка. Россия

SOME FEATURES OF THE MICROBIOTA OF THE NASOPHARYNX IN FREQUENTLY ILL CHILDREN RECEIVING TOPICAL CORTICOSTEROIDS

Nesterova A.A.¹, Nesterova K.I.¹, Nesterov I.A.²

¹ Omsk State Medical Academy; ² Hospital Research Centre RAS, Chernogolovka, Russia

Цель исследования – изучение частоты и характера грибкового поражения носоглотки у детей, получавших в комплексе терапии аденоидита и гипертрофии аденоидных вегетаций топический глюкокортикостероид (ТГКС) назонекс (мометазона фураат – МФ).

Материалы и методы. Провели микробиологическое исследование отделяемого из носа и глотки 152 часто болеющих детей; средний возраст – 6,6±3,8 лет, мальчиков – 54%, девочек – 46%. Все дети до обращения получали от 1 до 3-х курсов МФ длительностью от 1 до 6 недель. Бактериологическое исследование проводили с определением культуральных свойств, таксономического положения, микробного числа и чувствительности к антибиотикам, антимикотикам и некоторым

антисептикам.

Результаты. Грибы были выделены у 24,3% детей (37 из 152). Вся микрофлора была представлена *Candida* spp., только в одном случае была получена *C. glabrata* ($\times 10^5$). При этом, 44,4% ($n=16$) *Candida* находились в трехкомпонентных, 41,7% ($n=15$) – в двухкомпонентных, 8,3% ($n=3$) – в четырехкомпонентных ассоциациях. В 2-х случаях (5,6%) грибок был получен в монокультуре.

Ассоциантами выступали в трети случаев *Staphylococcus aureus*, в 12,2% – представители индигенной микрофлоры. Реже других в ассоциации с *Candida* обнаруживали пневмококки. Степень обсемененности также очень варьировала. Так, высевная и в монокультуре, и в ассоциациях *Candida* могла быть и в 8, и в 3 степени. Но в большинстве случаев она превышала 4 степень.

В подавляющем большинстве случаев чувствительность к основному ряду антимикотиков была достаточной, но у 15% детей спектр чувствительности был ограниченным. Вероятной причиной такой частой грибковой инвазии слизистой оболочки носоглотки у детей, получавших МФ, может являться длительное (более 8 часов) нахождение концентрированных препаратов на поверхности эпителия за счет их низкой растворимости. Это свойство, по мнению А. Miller-Larson, характерно для большинства ТГКС (кроме будесонида).

Вывод. Грибковое поражение носоглотки у часто болеющих детей может быть результатом врачебной ошибки (ятрогении) при бесконтрольном и необоснованном применении МФ на фоне гнойной инфекции.

The purpose of the research - is study of the frequency and nature of fungal infections of the nasopharynx of children, who was treated by topical glucocorticosteroid (TGCS) Nasonex (mometasone furoate - MF) in combination therapy of adenoiditis and adenoid hypertrophy

Materials and methods. Microbiological examination of discharge from the nose and throat of 152 children was carried out; average age - $6,6 \pm 3,8$ years, boys -54%, girls - 46%. All children under treatment received from 1 to 3 courses MF duration from 1 to 6 weeks. Bacteriological examination was performed with the definition of cultural properties, taxonomic position, and the number of microbial sensitivity to antibiotics, antimycotics and some antiseptic.

Results. 24.3% of children (37 of 152) have isolated fungal microflora. All microbiota was introduced *Candida* spp., only one case was derived *C. glabrata* ($\times 10^5$). Thus, 44,4% ($n = 16$) *Candida* were ternary, 41,7% ($n = 15$) - in the two-component, 8,3% ($n = 3$) - in a four-associations. In 2 cases (5.6%), the fungus was obtained in monoculture.

Associants performed in a third of cases of *Staphylococcus aureus*, 12.2% - representatives of the indigenous microbiota. Less often in association with other *Candida* showed pneumococci. The degree of contamination is also very varied. Thus, seeded in monoculture and *Candida* associations could be 8, and 3 degrees. But in most cases it exceeded 4 degree.

In most cases, the sensitivity to the main number of antifungals was sufficient, but 15% of the children range of sensitivity was limited. Probably the cause of this common mucosal fungal infestation of nasopharynx in children is receiving MF may be long-term (more than 8 hours) the location of concentrated preparations epithelial surface due to their low solubility. This property, in the opinion of A. Miller-Larson, typical for most TGKS (except budesonide).

Conclusion. Fungal infection of the nasopharynx in sickly children can be the result of medical errors (iatrogenic) with uncontrolled and unjustified use of MF on the background of purulent infection.

ЗНАЧЕНИЕ ГРИБКОВОГО ФАКТОРА В ФОРМИРОВАНИИ ХРОНИЧЕСКИХ РИНОСИНУСИТОВ

Нестерова К.И.¹, Нестеров И.А.², Нестерова А.А.¹

¹ Омская государственная медицинская академия; ² Больница Научного центра Российской академии наук, Черноголовка, Россия

MEANING FUNGAL FACTOR IN THE FORMATION OF CHRONIC RHINOSINUSITIS

Nesterova K.I.¹, Nesterova A.A.¹, Nesterov I.A.²

¹ Omsk State Medical Academy; ² Hospital Research Centre RAS, Chernogolovka, Russia

Цель исследования – изучение значимости грибкового фактора в формировании хронического риносинусита (РС) и особенностей его течения.

Материалы и методы. Под нашим наблюдением находились 1338 пациентов с РС в возрасте от 16 до 75 лет с патологией околоносовых пазух и 320 человек – без таковой. Среди больных преобладали женщины (до 74%). Гнойный процесс у всех пациентов протекал с вовлечением верхнечелюстной пазухи (ВЧП). Микробиологическое исследование отделяемого из носа и ВЧП проводили с определением культуральных свойств, таксономического положения, микробного числа и чувствительности к антибиотикам, антимикотикам и некоторым антисептикам. При отрицательном результате использовали полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и цито-гистологическое исследование удаленного интраоперационного материала.

Результаты. Соотношение острых и хронических РС составило 3/2. У практически здоровых людей носительство гриба в носовой слизи отмечали в 8% случаев. У пациентов с острыми РС грибы были высеяны рутинными методами в 8,7% случаев, при орбитальных риносинусогенных осложнениях грибок не получен ни разу (преобладали анаэробы, синегнойная палочка, стафилококки, энтеробактерии). При хроническом РС грибок выращен только в 13% случаев. Причем доля грибковых поражений, в целом, составила 56% при всех хронических формах гнойного РС, что является показателем недостаточности бактериологического исследования содержимого пазух для подтверждения этой формы РС, т.к. в промывных водах содержится, по-видимому, нежизнеспособные грибковые фрагменты. Значительную роль в диагностике грибкового поражения играла клиническая картина, данные компьютерного исследования пазух, иммунологические методы, ПЦР и цито-гистологическое исследование интраоперационного материала с использованием селективных методов. Наиболее информативна постановка ШИК-реакции и метода Гомори.

Наиболее часто у пациентов выявляли грибы *Aspergillus* (исключая *A. restrictus*) и *Penicillium*, реже – *Candida*, редко наблюдали грибы рода *Alternaria* и единично – *Mucor*.

Вывод. Грибковое поражение играет значимую роль в формировании хронического РС.

The purpose of research - the study of the significance of fungal factor in the formation of chronic rhinosinusitis (RS) and the features of its course.

Materials and methods. We observed 1338 patients with RS at the age of 16 to 75 years with pathology of the paranasal sinuses and 320 people - without it. Among the patients were women (74%). Purulent process in all patients was characterized by the involvement of the maxillary sinus (MS). Microbiological examination of discharge from the nose and the MS was performed with the definition of cultural properties, taxonomic position, and the number of microbial sensitivity to antibiotics, antifungal and some antiseptic. With a negative result using the polymerase chain reaction (PCR) and cyto-histological study of remote intraoperative material.

Results. The ratio of acute and chronic RS was 3/2. In healthy people carrier of the fungus in the nasal mucus observed in 8% of cases. In patients with acute MS fungal microorganisms were seeded by routine methods in 8.7% of cases, with orbital complications rhinosinusogeny fungus is not received even once (dominated by anaerobes, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus*, enterobacteria). In chronic RS fungus is grown only in 13% of cases. Moreover, the proportion of fungal infections in general, 56% in all forms of chronic suppurative RS which is indicative of insufficient bacteriological examination to confirm the contents of the cavities that form RS as contained in the washings, apparently non-viable fungal fragments. A significant role in the diagnosis of fungal infections played clinical picture, CT scans of sinuses, immunological methods, PCR and cyto-histological study of intraoperative material using elective methods. The most informative statement of PAS-reaction and Gomori method.

The most frequently was detected fungi *Aspergillus* (excluding *A. restrictus*) and *Penicillium*, rarely - *Candida*, rarely observed fungi of the genus *Alternaria* and single - *Mucor*.

Conclusion. Fungal infection plays an important role in the formation of chronic RS.

ЧАСТОТА ГРИБКОВОЙ ИНВАЗИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ГЛОТКИ У ЖИТЕЛЕЙ ЗАПАДНО- СИБИРСКОГО РЕГИОНА

Нестерова К.И.¹, Нестерова А.А.¹, Чеснокова М.Г.¹, Нестеров И.А.², Лобанова О.С.³, Иоаннина Ю.В.¹, Горбачева Н.Ю.¹, Соловьева Т.Д.⁴, Карпова О.И.⁴, Неверова М.В.⁴, Волосникова А.Р.⁴

¹ Омская государственная медицинская академия; ² Больница Научного центра Российской академии наук, Черноголовка; ³ Омская областная клиническая больница; ⁴ Клинический медико-хирургический центр МЗ Омской области, Россия

THE FREQUENCY OF FUNGAL INVASION OF THE MUCOUS MEMBRANE OF THE PHARYNX RESIDENTS OF THE WEST SIBERIAN REGION

Nesterova K.I.¹, Nesterova A.A.¹, Chesnokova M.G.¹, Nesterov I.A.², Lobanova O.S.³, Ioannina YU.V.¹, Gorbacheva N.YU.¹, Solovyova T.D.⁴, Karpova O.I.⁴, Neverova M.V.⁴, Volosnikova A.R.⁴

¹ Omsk State Medical Academy; ² Hospital Research Center, Russian Academy of Sciences, Chernogolovka; ³ Omsk Regional Hospital; ⁴ Clinical Surgical Center Omsk region, Russia

Цель – изучение количественных и качественных показателей грибковых заболеваний слизистой оболочки глотки.

Материалы и методы. Провели микробиологическое исследование отделяемого глотки 137 больных хроническим тонзиллофарингитом с определением культуральных свойств, таксономического положения, микробного числа и чувствительности к антибиотикам и антимикотикам.

Результаты. В монокультуре микроорганизмы высевали в 54% случаев (n=74), в ассоциации – в 46% (n=63). Грибы в монокультуре выделены только в 3 случаях (4,05%): *C. albicans* – в 2,7%, не-*albicans* виды *Candida* – в 1,4%. *Candida* spp. из ассоциаций получены в концентрации 10⁶ – 22,2%, 10⁴ – 12,7%, 10² – 4,8%; из них: *C. albicans* – 38,1% (n=24), не-*albicans* виды *Candida* – 6,3% (n=4). *C. albicans* (x10⁶) в 2 случаях изолировали из трехкомпонентных ассоциаций, в остальных случаях – из двухкомпонентных. *C. albicans* (x10⁴) обнаружили в комбинации с *Staphylococcus aureus* (x10⁴) в 2 случаях, с *Streptococcus* группы D (x10⁶) – в 2, также отмечали ассоциации с видами *Streptococcus salivarius* (x 10⁴); *Streptococcus viridans* (x10⁶); *Branchamella catarrhalis* (x10⁴); *Klebsiella pneumoniae* (x10⁶). *Candida* spp., изолированные из отделяемого глотки (x10²), участвовали в создании ассоциаций со *S. aureus* (x10⁴); *Streptococcus* группы D (x10⁹); *Haemophilus influenzae* (x10⁴); *Acinetobacter calcoaceticus* (x10⁴).

При определении микограммы: *C. albicans* была чувствительна к нистатину и амфотерицину В в 27,3% случаев, к клотримазолу – в 54,5%, к флуконазолу – в 75%, к итраконазолу – в 87,5%. Не-*albicans* виды *Candida* в большинстве случаев были чувствительны к кетоконазолу и итраконазолу.

Вывод. Знание основных особенностей микробного «ландшафта» слизистой оболочки глотки необходимо для эмпирического лечения заболеваний этого органа.

The **goal** is - the study of quantitative and qualitative indicators of fungal infections of the mucous membrane of the pharynx.

Materials and methods. Microbiological research throat secretions of 137 patients with chronic tonsillopharyngitis was conducted with the definition of cultural properties, taxonomic position, and the number of microbial sensitivity to antibiotics and antimycotics.

Results. In monoculture inoculated microorganisms in 54% (n = 74), the association of - 46% (n = 63). Fungus monoculture allocated only three cases (4,05%): *C. albicans* - 2.7%, non-*albicans* species of *Candida* - 1.4%. *Candida* spp. obtained from the association in a concentration of 10⁶ - 22.2%, 10⁴ - 12.7% , 10² - 4.8%; are: *C. albicans* - 38,1% (n = 24), non-*albicans* species of *Candida* - 6,3% (n = 4). *C. albicans* (x 10⁶) in 2 cases of isolated ternary associations, in other cases - from the two-component. *C. albicans* (x 10⁴) found in combination with *Staphylococcus aureus* (x 10⁴) in 2 cases, *Streptococcus* group D (x 10⁶) - 2, as mentioned association with species *Streptococcus salivarius* (x 10⁴); *Streptococcus viridans* (x 10⁶); *Branchamella catarrhalis* (x 10⁴); *Klebsiella pneumoniae* (x 10⁶). *Candida* spp., isolated from pharyngeal secretions (x 10²), participated in the creation of associations with *S. aureus* (x 10⁴); *Streptococcus* group D (x 10⁹); *Haemophilus influenzae* (x 10⁴); *Acinetobacter calcoaceticus* (x 10⁴).

In mikrogrammy: *C. albicans* was sensitive to nystatin and amphotericin B in 27.3% of cases, to clotrimazol - 54.5%, fluconazol - 75%, to itraconazol - 87.5%. Non-*albicans* *Candida* species, in most cases were sensitive to ketoconazol and itraconazol.

Conclusion. Knowledge of the main features of microbial 'landscape' of pharyngeal mucosa is necessary for the empirical treatment of diseases of the body.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМЕРНОГО СОЕДИНЕНИЯ НА АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА *CANDIDA ALBICANS*

Нечаева О.В.¹, Шаповал О.Г.¹, Вакараева М.М.², Ульянов В.Ю.³, Тихомирова Е.И.², Целик К.С.¹

¹Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского; ²Саратовский ГТУ имени Гагарина Ю.А.; ³Саратовский НИИ травматологии и ортопедии, Саратов, Россия

INFLUENCE OF POLYMERIC COMPOUND ON ADHESIVE PROPERTIES OF *CANDIDA ALBICANS*

Nechaeva O.V.¹, Shapoval O.G.¹, Vakaraeva M.M.², Ul'yanov V.Yu.³, Tikhomirova E.I.², Tselik K.S.¹

¹Saratov State Medical University; ²Saratov State Technical University; ³Saratov research institute of traumatology and orthopedics, Saratov, Russia

Адгезия микроорганизмов – начальный этап взаимодействия как с клетками макроорганизма, так и с инертными поверхностями изделий медицинского назначения, что обеспечивает начальные этапы формирования биопленок и способствует развитию катетер-ассоциированных инфекций. Поэтому поиск способов снижения адгезивной активности возбудителей инфекционных заболеваний является актуальной проблемой.

Цель работы – изучение влияния сублетальных концентраций нетоксичного полимерного соединения – полиазолидинаммония, модифицированного гидрат-ионами йода (ПААГ-М), на адгезивные свойства стандартного и клинических штаммов *Candida albicans*.

Материалы и методы. Адгезивную активность изучали методом В.И. Брилис с соавт. (1986) на свежих эритроцитах 0(I) Rh(+), которую оценивали с помощью иммерсионной микроскопии по индексу адгезии микроорганизма (ИАМ). Опытные образцы предварительно инкубировали с добавлением сублетальных концентраций ПААГ-М в течение 6 часов.

Результаты. Исходно, по показателям ИАМ, стандартный штамм *C. albicans* 13108 оценивали как среднеадгезивный, а все клинические штаммы – как высокоадгезивные. После обработки клеток ПААГ-М происходило снижение адгезивных свойств стандартного и клинических штаммов *C. albicans* до неадгезивного уровня. Вероятно, это связано с влиянием ПААГ-М на их клеточную стенку и блокировкой гликопротеиновых фибрилл, обеспечивающих процесс неспецифической адгезии.

Заключение. Полученные результаты открывают перспективы использования ПААГ-М для обработки изделий медицинского назначения с целью снижения адгезивных свойств микроорганизмов, нарушая тем самым процесс формирования микробных биопленок.

Microorganisms' adhesion is the initial stage of interaction with cells of macroorganism and with inert surfaces of medical products that provide the initial stages of biofilm formation and promotes the development of catheter-related infections. Thus the search for the ways of reducing adhesive activity of infectious agents is the important issue.

Purpose – to study the influence of sublethal concentrations of nontoxic polymeric compound (poliazolidinammony, modified by hydrate-ions of iodine – PAAG-M) on adhesive properties of standard and clinical strains *Candida albicans*.

Materials and methods. Adhesive activity has been studied by Brilis method (1986) on active RBC 0(I) Rh(+) and was estimated by immersion microscopy on microorganism adhesion index (MAI). Pilot samples were pre-incubated with sublethal concentrations of PAAG-M for 6 hours.

Results. Initially, on MAI indicators, the standard strain of *C. albicans* 13108 was estimated as medium-adhesive, and all clinical strains – as highly-adhesive. After PAAG-M treatment of the cells adhesive properties of both strain types decreased to non-adhesive level. This was probably due to the influence of PAAG-M on their cell wall and blocking of glycoprotein fibrils that provide non-specific adhesion process.

Conclusion. These results open perspectives of using PAAG-M for processing of medical products in order to reduce the adhesive properties

of microorganisms, thereby breaking the process of the microbial biofilm formation.

КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ОТРУБЕВИДНЫМ ЛИШАЕМ НАСЕЛЕНИЯ Г. ВОРОНЕЖА

Новикова Л.А., Бахметьева Т.М.

Воронежская государственная медицинская академия имени Н.Н.Бурденко МЗ РФ, Воронеж, Россия

CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL FEATURES OF THE DISEASE BY PITYRIASIS VERSICOLOR IN VORONEZH POPULATION

Novikova L.A., Bakhmetieva T.M.

Voronezh State Medical Academy named after N. N. Burdenko MH RF, Voronezh, Russia

Цель – изучение заболеваемости и некоторых клинических особенностей отрубевидного лишая среди населения г. Воронежа.

Материал и методы. Исследование проводили на базе поликлинического отделения БУЗ ВО «Воронежский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи». Материалом для исследования служили амбулаторные карты, данные кварталных и годовых отчетов.

Результаты. Общее число больных отрубевидным лишаем в г. Воронеже в 2014 г. составило 427 (19,3% среди всех зарегистрированных грибковых заболеваний кожи). Возрастной диапазон пациентов варьировал от 8 до 58 лет. Установлено, что значительно чаще за медицинской помощью обращались лица женского пола (257 больных, 60,2%), мужчин – 170 (39,8%). Большинство больных были в возрасте старше 18 лет (289 случаев, 67,7%), подростков – 88 (20,6%), детей – 50 (11,7%), то есть количество зарегистрированных взрослых больных превышало в 2,9 раза число заболевших подростков и в 5,1 раза – детей. Чаще больные обращались к врачу в августе-сентябре. Работающих среди пациентов было 137 (32%), неработающих – 152 (35%), учащихся – 138 (33%). Отметим, что давность заболевания у всех пациентов к моменту начала лечения составляла более 6 месяцев (чаще – несколько лет). Проблема позднего обращения при отрубевидном лишае была обусловлена, в основном, недостаточной информированностью пациентов о возможностях лечения этого заболевания. Около трети больных (130 человек, 30,4%) получали предшествующее (в основном, наружное) лечение, которое не привело к выздоровлению. Клинические проявления у обследованных лиц в виде пятен на коже от бледно-розового до бурового цвета, гипопигментированных очагов полициклических очертаний, склонных к слиянию, чаще носили распространенный характер с локализацией на коже туловища, шеи, плеч. Определяли положительные пробы Бальцера и Бенъе, свечение под люминесцентной лампой Вуда. При лабораторном микроскопическом исследовании у больных обнаружили *Malassezia furfur*. К факторам, способствовавшим развитию заболевания, пациенты относили частый стресс, повышенную потливость, использование антибактериальных средств по уходу за кожей, посещение солярия. У 36,7% больных наблюдали сопутствующие заболевания эндокринной системы (гипотиреоз, сахарный диабет), метаболический синдром.

Выводы. Высокие показатели заболеваемости отрубевидным лишаем среди населения г. Воронежа служат показателем того, что профилактика грибковых заболеваний кожи и разработка эффективных методов лечения являются приоритетной задачей государственного здравоохранения. При этом повышение информированности населения, врачей других специальностей будет способствовать более раннему выявлению заболевания.

КАЧЕСТВО ЖИЗНИ У БОЛЬНЫХ ОНИХОМИКОЗАМИ

Новикова Л.А., Бахметьева Т.М.

Воронежская государственная медицинская академия имени Н.Н.Бурденко МЗ РФ, Воронеж, Россия

THE QUALITY OF LIFE IN PATIENTS WITH ONYCHOMYCOSIS

Novikova L.A., Bakhmetieva T.M.

Voronezh State Medical Academy named after N. N. Burdenko MH RF, Voronezh, Russia

Цель – изучение качества жизни у пациентов, страдающих онихомикозами.

Материалы и методы. Под наблюдением находились 49 больных с онихомикозами – 25 женщин (62,5%) и 24 мужчины (37,5%) в возрасте 35-56 лет. Контрольную группу составили 27 здоровых лиц аналогичного пола и возраста. Оценка качества жизни проводили с помощью опросника «Дерматологический индекс качества жизни» – ДИКЖ (Dermatology Life Quality Index – DLQI) – русифицированная Кочергиным Н.Г. и соавтором версия индекса Finlay F.Y. (1996), помогающего оценить физическое, психоэмоциональное состояние пациентов, а также комфортность проводимого лечения. Данный стандартизированный опросник построен в форме самооценки пациентов, включает 10 вопросов и заполняется самим пациентом. Ответы на каждый вопрос оценивают по 3-балльной системе: «очень сильно» (очень часто) – 3 балла, «сильно» (часто) – 2 балла, «не сильно» (не часто) – 1 балл, «совсем нет» или «затрудняюсь ответить» – 0 баллов. Подсчет индекса осуществляли суммированием всех баллов: минимальное значение – 0 баллов, максимальное значение – 30 баллов. Цифровой индекс, получаемый в результате ответов на все вопросы анкеты, отражает степень негативного влияния симптомов болезни на качество жизни больного – чем выше индекс, тем сильнее болезнь «ухудшает» качество жизни (качество жизни пациента обратно пропорционально сумме баллов). Результаты определяли по следующим критериям: 1-10 баллов – легкая степень снижения качества жизни, 11-20 – средняя, 21-30 – тяжелая. Для оценки статистической обработки данных применили пакет статистических программ Statistica For Windows с вычислением средней арифметической и ее стандартной ошибки ($M \pm m$). Различия между сравниваемыми группами считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты. У всех обследованных пациентов наблюдали поражение ногтевых пластинок стоп (от 4 до 10), а у 9 (18,4%) – и ногтевых пластинок кистей. Поражение ногтевых пластинок чаще протекало по гипертрофическому типу (37 больных, 75,5%), реже – по нормотрофическому типу (12 больных, 24,5%). Отмечали поражение кожи подошв, межпальцевых складок, которое носило сквамозный характер. При бактериологическом исследовании у 42 человек (85,7%) был выделен *Trichophyton rubrum*, у 7 (14,3%) – *Trichophyton interdigitales*. Давность заболевания составляла от 6 месяцев до 3 лет. Средний уровень ДИКЖ у больных онихомикозами – $26,7 \pm 1,3$ балла, что отражало тяжелую степень негативного влияния заболевания на качество жизни и статистически отличалось от группы здоровых лиц – $5,2 \pm 0,6$ балла ($p < 0,001$).

Выводы. У больных онихомикозами имеет место значительное снижение качества жизни. Оценка качества жизни у больных онихомикозами – перспективное направление, которое даст возможность точнее оценить нарушения в состоянии здоровья пациентов, яснее выявить суть клинической проблемы, определить наиболее рациональный метод лечения, а также оценить его ожидаемые результаты по параметрам, которые находятся на стыке научного подхода специалистов и субъективной точки зрения пациентов.

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К НАРУЖНОЙ ТЕРАПИИ МИКОЗОВ СТОП

Новикова Л. А., Буравкова А. Г., Демьянова О. Б.

Воронежская государственная медицинская академия им. Н. Н. Бурденко, Воронеж, Россия

THE COMTEMPORARY APPROACHES TO THE TOPICAL THERAPY OF THE FEET MYCOSIS

Novikova L. A., Buravkova A. G., Demyanova O. B.

Voronezh State Medical Academy, Russia

Микозы кожи и её придатков по сей день являются актуальной проблемой дерматологии из-за большой распространённости и длительного хронического течения. Отсюда возникает необходимость поиска и применения новых методов лечения.

Цель исследования – оценить эффективность, безопасность и переносимость сертаконазола в форме крема «Сертамикол», обладающего широким спектром антимикотического действия и оказывающего фунгицидный и фунгистатический эффекты.

Материалы и методы. Под нашим наблюдением находились 25 пациентов (16 женщин, 9 мужчин) в возрасте от 18 до 54 лет, страдающих микозом стоп. У 8 пациентов диагностировали сквамозно-гиперкератотическую форму микоза стоп, у 10 – интертригинозную, у 7 – дисгидротическую. Длительность заболевания – от 2 месяцев до 5 лет. Диагностику микоза проводили на основании клинической картины и лабораторных данных (микроскопия и/или бактериологическое исследование). При наличии в очагах признаков острого воспаления (эритема, отёчность, везикулы) наружную терапию начинали с водных растворов анилиновых красителей, цинковой пасты. При отсутствии симптомов острого воспаления или после его стихания назначали крем «Сертамикол» 2 раза в день в течение 3-5 недель. В процессе лечения и по его окончании дезинфицировали обувь спреем тербинафин. Контрольный осмотр и обследование пациентов проводили еженедельно.

Результаты. Длительность лечения колебалась от 3 до 5 недель. Клинико-лабораторное выздоровление через 3 недели наблюдали у 8 пациентов с интертригинозной и у 4 – с дисгидротической формой микоза. Через 4 недели лечения кремом «Сертамикол» клинико-лабораторное выздоровление наступило у 4 пациентов с интертригинозной, у 5 – со сквамозно-гиперкератотической и у 2 – с дисгидротической формой заболевания. У 3 пациентов со сквамозно-гиперкератотической и у 1 – с дисгидротической формой микоза клинико-лабораторное выздоровление было достигнуто через 5 недель терапии.

Побочные эффекты в виде некоторого усиления эритемы, кратковременного жжения в очагах были у 3 пациентов, что не потребовало перерыва в терапии. Все пациенты отмечали простоту и удобство применения крема, его приятные органолептические качества. В общих анализах крови, мочи и в биохимических показателях крови отклонений от нормы после окончания лечения не выявили.

Вывод. Сертаконазол в виде крема «Сертамикол» является эффективным и безопасным средством лечения микозов стоп.

КАНДИДОЗНЫЙ ЭРОЗИВНО-ЯЗВЕННЫЙ БАЛАНОПОСТИТ В СОЧЕТАНИИ С ТРИХОМОНАДНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Новикова Л.А., Бялик Л.Р., Горовой В.Е.

Воронежская государственная медицинская академия имени Н.Н.Бурденко МЗ РФ, Воронеж, Россия

CANDIDAL EROSIIVE AND ULCERATIVE BALANOPOSTHITIS IN A COMBINATION WITH THE TRICHOMONAL INFECTION

Novikova L.A., Byalik L.R., Gorovoj V.E.

Voronezh State Medical Academy by name N.N. Burdenko, Voronezh, Russia

Известно, что наиболее частой причиной эрозивно-язвенных поражений половых органов являются инфекции, передаваемые половым путём, такие как сифилис, вирус простого герпеса, гонорея, трихомоноз, а также заболевания грибковой и бактериальной этиологии.

Цель исследования – определение наиболее эффективной терапии у больных с кандидозным баланопоститом в сочетании с трихомонадной инфекцией.

Материалы и методы. В исследование было включено 12 пациентов в возрасте от 18 до 45 лет, у которых на основании данных бактериоскопического и бактериологического исследований установлен диагноз трихомоноза, кандидозного язвенно-эрозивного баланопостита.

Результаты. При серологическом обследовании сифилитической инфекции не выявили. Размеры язв в области половых органов колебались от 1 до 1,5 сантиметров, края язв были неправильных округлых очертаний, консистенция – мягкая. Дно эрозий и язв красного цвета, покрыто слизисто-гнойным налётом, легко снимающимся при лёгком прикосновении. В окружности эрозивно-язвенных элементов отмечали слабо выраженную отёчность. Субъективно больные предъявляли жалобы на небольшую болезненность. Кроме этого, у пациентов при культуральном обследовании была высеяна *Candida albicans*. На головке полового члена и внутреннем листке крайней плоти обнаружили везикулы и множественные эрозии.

Назначили лечение трихомоноза орнидазолом (группа нитроимидазола) по 500 мг два раза в сутки в течение пяти дней; по поводу генитального кандидоза пациенты получали итраконазол по 200 мг один раз в сутки – 3 дня. После окончания курса терапии и проведения контрольных анализов, констатировали полное выздоровление пациентов (92,3%).

Заключение. При дифференциальной диагностике эрозивно-язвенных поражений половых органов необходимо учитывать множество этиологических факторов этого заболевания, проводить тщательное обследование таких пациентов, что повышает качество диагностики, а также помогает проводить эффективное этиотропное лечение выявленных заболеваний.

КОАГУЛАЗОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ СТАФИЛОКОККИ В ДИЗАЙНЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА И ДИАГНОСТИКИ ДИСБИОТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

Оганесян Э.Г. (руководитель: Оришак Е.А.)

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

COAGULASE-NEGATIVE STAPHYLOCOCCI AS THE PART OF THE STUDY DESIGN OF THE INTESTINAL MICROBIOTA AND OF THE DYSBIOSIS DIAGNOSTICS

Oganesyan E.G. (Scientific adviser: Orischak E.A.)

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

Цель – оценка различных подходов к идентификации коагулазоотрицательных стафилококков и трактовке результатов при изучении микробиоты кишечника и диагностике дисбиотических состояний.

Методы и средства. Идентифицировали штаммы стафилококков, выделенные из фекалий пациентов с дисбиозом кишечника. Применяли методы классической бактериологии и MALDI-TOF масс-спектрометрию. Определение чувствительности к антибактериальным препаратам проводили на агаре Мюллера-Хинтон с использованием дисков Sensi-Disc (BD BBL). При интерпретации результатов руководствовались критериями EUCAST.

Результаты и обсуждение. Выделено 154 культуры стафилококков, из которых 98 штамма (63,6%) идентифицировали как коагулазоотрицательные стафилококки. Из них 22 штамма оказались лецитиназоположительными, что является одним из ключевых признаков при идентификации *Staphylococcus aureus*, но, фактически, нередко отмечают у стафилококков, не относящихся к виду *S. aureus*. С помощью MALDI-TOF расшифровали разнообразный видовой состав коагулазоотрицательных стафилококков (КНС): 42 штамма – *S. epidermidis*, 41 – *S. haemolyticus*, 2 – *S. saprophyticus*, 7 культур – *S. hominis*, 2 – *S. warneri*, 1 – *S. simulans*, 1 – *S. auricularis*, 1 – *S. carpaе*, 1 – *S. lugdunensis*. Выделенные КНС были проверены на антибиотикрезистентность. Установили, что 87,7% штаммов устойчивы к бензилпенициллину, 57,4% – к макролидам (преимущественно – к эритромицину), 40,2% – к тетрацикламам, 31,9% – к линкозамидам (преимущественно – к линкомицину), 9,8% – к рифампицину,

18,3% – к гентамицину, 18,3% – к фторхинолонам (преимущественно – к левофлоксацину); 20,5% штаммов КНС были метициллинорезистентными, 2 штамма *S. epidermidis* оказались устойчивы ко всем антибиотикам.

Заключение. Коагулазоотрицательные стафилококки могут обладать достаточными факторами вирулентности и значимой устойчивостью к антибактериальным препаратам, что делает актуальным более широкую видовую идентификацию КОС при микробиологическом изучении микробиоты кишечника и диагностике дисбиотических состояний.

О МЕРАХ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ РИСКА ПОВЫШЕННОЙ МИКРОБНОЙ КОНТАМИНАЦИИ ПИЩЕВОЙ РЫБНОЙ ПРОДУКЦИИ

Одегова Н.В.

Государственный научно-исследовательский институт озерного и речного рыбного хозяйства, Санкт-Петербург, Россия

ON THE INCREASED MICROBIAL CONTAMINATION RISK PREVENTION MEASURES FOR FISH FOODS

Odegova N.V.

State Research Institute for Lake and River Fisheries, St. Petersburg, Russia

Развитие производства и расширение рынков сбыта продукции аквакультуры увеличивает биологические опасности и риски для выращиваемых объектов, людей и экосистем. Биологические риски в аквакультуре обусловлены не только остаточными количествами лекарственных и профилактических препаратов, но и инфекционными и инвазионными заболеваниями, развитием резистентности патогенов, зоонозами, загрязнением окружающей среды.

При оценке безопасности пищевой продукции микробиологические критерии являются приоритетными. В связи с этим важен анализ риска микробной контаминации культивируемых объектов и среды их обитания. Особое значение придается исследованиям распространения зоонозных агентов.

Цель – оценка риска контаминации товарной пищевой продукции аквакультуры плесневыми грибами.

Материалы и методы. Провели микологические исследования проб корма для рыб, воды и товарных рыб форелевого хозяйства садкового типа в разные сезоны года.

Результаты. В ряде изученных проб кормов для рыб установлены высокий уровень обсемененности плесневыми грибами, а также зависимость между микробной обсемененностью кормов, водной среды и поверхности тела рыб. Выделенные грибы отнесены к классу *Zygomycetes*. Известно, что некоторые представители данного класса могут вызывать порчу пищевых продуктов при их хранении и служить источником заболеваний человека и животных.

Заключение. Разрабатывается комплекс мер по предупреждению повышенной микробной обсемененности пищевой аквакультурной продукции.

Production development and expansion of aquaculture production markets increase biological hazards and risks for reared objects, people and ecosystems. Biological risks in aquaculture are conditioned not only by residues of medicines and preventives but also infectious and parasitic diseases, development of pathogen resistance, zoonoses, environmental pollution.

Microbiological criteria are priority in the food safety assessment. Thereby an analysis of microbial contamination risk for cultivated objects and their habitat is important. Investigations of spread of zoonose agents are emphasized.

The purpose was an assessment of risk of commodity food contamination by molds.

Materials and methods. Micological methods of fish feed and water samples and commodity fishes of trout hatcheries have been carried out in various seasons.

Results. High level of contamination by filamentous fungi and also related in microbial contamination of feeds, water environment and fish body surface have been established in a number of examined fish feed samples. Isolated fungi class as *Zygomycetes*. It is known that some representatives of the class may cause spoilage of foods during its storage and serve as a source of human and animal diseases.

Conclusion. Range of measures for prevention of increased microbial

contamination of foods from aquaculture objects is worked out.

ИЗУЧЕНИЕ ФАКТОРОВ ВНУТРИБОЛЬНИЧНОГО ИНФИЦИРОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ КЛИНИК

Омарова С.М., Алиева С.Ф.

Дагестанская государственная медицинская академия, Махачкала, Россия

THE STUDY OF NOSOCOMIAL INFECTIONS FACTORS IN PATIENTS IN DENTAL CLINICS

Omarova S.M., Aliyeva S.F.

Dagestan State Medical Academy, Makhachkala, Russia

Широкая сеть стоматологических учреждений, большое число медицинского персонала и массовый прием пациентов обуславливают контакты между больными и медицинскими работниками. Это способствует широкой циркуляции микроорганизмов в госпитальной среде, обсеменности рук персонала, медицинского инструментария, оборудования и воздушной среды стоматологических клиник. Циркуляция микроорганизмов в стоматологических учреждениях обеспечивается спецификой проводимых манипуляций, при которых выделяется большое количество микроорганизмов различных видов, что способствует увеличению риска передачи гнойных инфекций в амбулаторных и стационарных отделениях.

Цель – определение микробной обсеменности воздушной среды отделения челюстно-лицевой хирургии стационара республиканского значения.

Материалы и методы. Исследования проводили стандартными микробиологическими методами с использованием аппарата Кротова, в «чистых» и «гнойных» процедурных кабинетах, в операционных до и после обработки и работы.

Результаты. В работе проанализировали бактериальную обсемененность и подсчитали общее количество колониеобразующих единиц (КОЕ) воздушной среды отделения челюстно-лицевой хирургии на присутствие санитарно-показательных микроорганизмов. Изучено 32 образца воздуха, 19 проб (59,4%) были положительными. Из них в 13 случаях (68,4%) высевали грамм (+) кокковую микробиоту. Грам (-) микробиоту выделяли в 6 (31,6 %) случаях. В единичных случаях обнаруживали санитарно-показательные микробы (*Staphylococcus aureus*). При определении ОМЧ установили, что в операционных КОЕ до начала работы составляло 110-130 мкл/мл, а во время работы – 250-350 мкл/мл, что является относительной нормой. В процедурных и перевязочных КОЕ составляло до начала работы 230-360 мкл/мл, а во время работы – от 500 до 600 мкл/мл, что также является допустимым.

Выводы. В результате установлено, что санитарное состояние воздушной среды обследованных помещений удовлетворительное. Однако это не исключает воздушно-капельного и воздушно-пылевого факторов инфицирования госпитальной среды и развития внутрибольничных гнойных осложнений у пациентов.

A wide network of dental clinics, a large number of medical personnel and patients receiving massive cause contact between patients and health professionals. This contributes to the general circulation of the microorganisms in the hospital environment, contamination of the hands of personnel, medical instruments, equipment and air quality dental clinics. The circulation of microorganisms in dental offices provided the nature of its manipulation in which a large amount of different types of microorganisms, which increases the risk of transmission of pyogenic infections in outpatient and inpatient departments.

The goal to determine the microbial contamination of the air environment department of oral and maxillofacial surgery hospital of national importance.

Materials and methods. The investigations were carried out by standard microbiological methods using apparatus Krotov, a "clean" and "septic" treatment rooms, operating before and after treatment and work.

Results. In this paper we analyzed the bacterial contamination and estimate the total number of colony forming units (CFU) of the air environment department of oral and maxillofacial surgery at prisutstvie sanitary indicator microorganisms. Studied 32 samples of air, 19 samples (59.4%) were positive. Of these, 13 cases (68.4%) were seeded gram (+) cocci microbiota. Gram (-) 6 microbiota was isolated in 31,6% cases. In rare cases detected sanitary indicative bacteria (*Staphylococcus*

aureus). It was found that operating prior to the CFU was 110-130 ul / ml, and during operation - 250-350 l / ml, which is relatively normal when determining the TBC. In the treatment and dressing CFU before the operating was 230-360 ul / ml, and during operation - ranging from 500 to 600 l / ml, which is also valid.

Conclusions. The results revealed that the sanitary condition of the air environment of the surveyed facilities is satisfactory. However, this does not preclude airborne and airborne dust factors of infection in the hospital environment and the development of nosocomial septic complications in patients.

ИЗУЧЕНИЕ ФАКТОРОВ РАЗВИТИЯ ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ В АКУШЕРСКИХ СТАЦИОНАРАХ МАХАЧКАЛЫ

Омарова С.М., Моллаева А.М.

Дагестанская государственная медицинская академия, Махачкала, Россия

STUDY OF FACTORS IN THE DEVELOPMENT OF NOSOCOMIAL URINARY TRACT INFECTIONS IN OBSTETRIC HOSPITALS OF MAKHACHKALA CITY

Omarova S.M., Mollaeva A.M.

Dagestan State Medical Academy, Makhachkala, Russia

Актуальность проблемы роста внутрибольничных инфекций мочевыводящих путей (ВИМП) обусловлена высокими уровнями заболеваемости и смертности среди пациенток родовспомогательных стационаров. От 80 до 90% общего количества внутрибольничных инфекций мочевыводящих путей связаны с катетеризацией мочевого пузыря, 5-10% – с другими манипуляциями на органах мочеполовой системы.

Инфекции мочевыводящих путей (ИМП) нередко осложняют течение беременности, их частота может достигать 8%. В 80-90% ИМП вызывают *Escherichia coli*, реже – другие грамотрицательные микроорганизмы, такие как *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* и др. Грамположительные бактерии выявляют значительно реже.

Цель – определить микробиологический спектр основных уропатогенов, возбудителей инфекций мочевыводящих путей в акушерских стационарах.

Материалы и методы. Обследовано 95 женщин, у 78 при бактериологическом исследовании мочи был выделен возбудитель. Для бактериологического исследования брали среднюю порцию мочи. Исследование проводили количественным методом. При клинически значимой степени бактериурии (10^5 КОЕ/мл) выделенный патоген идентифицировали до рода и вида.

Результаты. При проведении микробиологического исследования катетеризации мочевого пузыря в акушерском стационаре количество нестерильных проб составило 6,4±1,6% ($p < 0,05$). Мочевой катетер многоразового применения как фактор передачи внутрибольничных инфекций мочевыводящих путей выявляли в 1,5 раза чаще, чем в гинекологическом стационаре (3,5±1,4% и 6,4±2,1% соответственно) ($p < 0,05$).

ИМП у беременных, в подавляющем большинстве случаев, вызывали *E.coli*, которые наблюдали у 60% пациенток. Другие виды микроорганизмов обнаруживали реже: *K. pneumoniae* – у 15%, *Proteus* spp. – у 3%, *Staphylococcus saprophyticus* у 10%, *Staphylococcus aureus* – 5%, *Enterococcus* spp. – у 2%, *Pseudomonas* spp. – 1%. Доля грибов рода *Candida* и неидентифицированных грамм (+) палочек составила по 7,5±4,8%.

Выводы. Наибольшее значение в структуре возбудителей ИМП у беременных, связанных с катетеризацией, имели два микроорганизма – *E. coli* и *K. pneumoniae*, которые в сумме обуславливали более 65% случаев ИМП.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA

Останкова Ю. В., Зуева Е. В., Семенов А. В., Тотолян Арег А.
НИИ имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

CLINICAL CASE IDENTIFICATION STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA

Ostankova Y.V., Zueva E.V., Semenov A.V., Totolian Areg A.

Research Institute Pasteur, Saint-Petersburg, Russia

В настоящее время бактерия *Stenotrophomonas maltophilia* представляет серьезную клиническую проблему. Высокая гетерогенность штаммов и множественная резистентность к антимикробным препаратам *S. maltophilia* становится препятствием не только для определения выбора терапевтического препарата, но и для ее правильной идентификации. При этом *S. maltophilia* поражает больных с иммуносупрессией различного происхождения, а бактериемии, вызываемые данным микроорганизмом, индуцирует высокую летальность. Таким образом, ранняя идентификация *S. maltophilia* представляет очевидную значимость для практикующих врачей.

Цель – оценить современные возможности идентификации инфекционного агента при клиническом случае тяжелого сепсиса.

Материалы и методы. Пациент Г., 65 л., рак гортани с метастазированием, стадия IVb. На фоне проведенной химиотерапии развилась картина сепсиса. Идентификация этиологического агента культуральными методами и с помощью коммерческих наборов не дала результатов. Для выявления возбудителя в НИИ им. Пастера переданы образцы цельной крови и бактериальной культуры. Дальнейшую идентификацию проводили двумя методами: секвенированием по Сэнгеру и MALDI-TOF масс-спектрометрией.

Результаты. Получена нуклеотидная последовательность фрагмента гена 16S рРНК размером 616 п.о. Видовую идентификацию проводили с помощью программы NCBI Blast, в сравнении с последовательностями генов, представленных в международной базе данных Gene Bank (совпадение должно быть более 99%). Микроорганизмы, представленные в клинических образцах крови и культуре, были идентичны и идентифицированы как бактерия *S. maltophilia*. MALDI-TOF масс-спектрометрию осуществляли на масс-спектрометре в линейном режиме с детекцией положительно заряженных ионов массой от 2000 до 20000 и отсечением сигнала от ионов матрицы. Идентификацию полученных белковых спектров выполняли путем сравнения с референтной базой, содержащей спектры 5627 клеточных организмов, с использованием пакета программ MALDI Biotyper 3.1 (Bruker Daltonics). Результат оценивали в баллах (общий десятичный логарифм значений пиков, совпадающих в спектре образца и эталонного спектра). Показано совпадение с эталонными спектрами *S. maltophilia*.

Заключение. Выявлена *S. maltophilia*. Использование современных высокоточных методов сокращает время идентификации бактерий, в том числе, позволяя выявление объекта непосредственно из крови пациента без затрат на посев, выращивание культуры и дальнейшую идентификацию культуральными методами, что ускоряет подбор адекватной терапии для пациента.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНА 16S РРНК МЕЖДУНАРОДНЫХ РЕФЕРЕНС-ШТАММОВ LEPTOSPIRA SPP.

Останкова Ю. В., Семенов А. В., Токаревич Н. К., Стоянова Н. А.
НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

THE COMPARATIVE ANALYSIS OF INTERNATIONAL REFERENCE STRAINS OF LEPTOSPIRA SPP. BY16S RRNA GENE SEQUENCE

Ostankova Y. V. Semenov A. V., Tokarevich N. K., Stoyanova N. A.

Research Institute Pasteur, Saint-Petersburg, Russia

Лептоспироз – острая инфекционная болезнь, вызываемая различными серотипами *Leptospira* spp. В России, более чем в 50 субъектах Федерации, ежегодно выявляют заболевания лептоспирозом, и летальность при этой инфекции на некоторых территориях превышает 20%, что дает возможность рассматривать лептоспироз в од-

ном ряду с особо опасными инфекциями. В настоящее время систематика и номенклатура лептоспир включают две различные классификационные системы: серологическую и генотипическую, которые могут не совпадать друг с другом – лептоспиры одной серогруппы могут принадлежать к разным геновидам.

Цель – секвенирование гена 16S рРНК референсных штаммов *Leptospira* spp. и дальнейшее сравнение полученных последовательностей с представленными в международной базе данных нуклеотидными последовательностями соответствующих штаммов.

Материалы и методы. В работе исследовали 16 коллекционных международных референс-штаммов, используемых для диагностики лептоспироза в реакции микроагглютинации.

Результаты. В ходе ПЦР получены фрагменты гена 16S рРНК размером 1423 п.о. Определение нуклеотидной последовательности проводили методом секвенирования по Сэнгеру с помощью системы генетического анализа GenomeLab GeXP. Полученные последовательности гена выравнивали, используя алгоритм ClustalW. Сравнительный анализ осуществляли с помощью программы NCBI Blast с аннотированными данными международной базы Gene Bank. При построении филогенетического дерева использовали метод UPGMA, bootstrap N=500.

Заключение. Показана высокая идентичность анализируемых фрагментов одних и тех же штаммов в различных странах, что подтверждает возможность их использования как референсных. Выявлены сходные нуклеотидные замены, позволяющие предположить либо гетерогенность первичного источника, либо сходную направленность мутаций. Однако общее сходство фрагментов гена 16S рРНК разных видов *Leptospira* spp. не всегда дает возможность верно генотипировать штаммы, что противоречит некоторым работам иностранных коллег о высокой специфичности типирования *Leptospira* spp. по нуклеотидной последовательности 16S, но совпадает с исследованиями, в которых показана необходимость дополнительного типирования штаммов по специфичным генам.

ВИДОВАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ БАКТЕРИЙ В СМЕШАННЫХ КУЛЬТУРАХ

¹Останкова Ю. В., ¹Семенов А. В., ¹Тотолян Арег А., ²Пищик В. Н., ³Попов А. А.

¹ НИИ имени Пастера, ²Агрофизический институт, ³Всероссийский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

SPECIES IDENTIFICATION OF BACTERIA IN MIXED CULTURES

¹Ostankova Y.V., ¹Semenov A.V., ¹Totolian Areg A., ²Pishchik V.N., ³Popov A.A.

¹Research Institute Pasteur, ²Agrophysical Institute, ³All-Russian Institute for Agricultural Microbiology, St. Petersburg, Russia

Использование клеточных культур с развитием отрасли биотехнологии получило широкое распространение и применение в самых разнообразных областях для изучения и решения многих проблем. Точная характеристика клеточных культур, служащих экспериментальными моделями или опытными образцами, является необходимым условием работы. Однако в некоторых случаях невозможно выделение чистой культуры из культуральной смеси, что затрудняет идентификацию микроорганизмов.

Цель – идентифицировать бактерии, входящие в состав смешанных культур.

Материалы и методы. Исследовали четыре образца предположительно смешанных бактериальных близкородственных культур, разделение которых на отдельные клоны с дальнейшим получением чистых культур было затруднено или не представлялось возможным. Из представленных образцов ДНК была выделена двумя методами, принцип действия которых основан на лизисе клеток и денатурации клеточных белков с последующим осаждением нуклеиновых кислот изопропанолом и/или этанолом. Видовую идентификацию основывали на определении нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК с использованием трех пар перекрывающихся универсальных праймеров, включая максимально вырожденную пару.

Результаты. Получены фрагменты гена размером 1470-1546 п. о. Для каждого фрагмента методом секвенирования по Сэнгеру, с помощью системы генетического анализа GenomeLab GeXP, определена последовательность нуклеиновых кислот. Сравнительный ана-

лиз полученных последовательностей проводили с помощью программы NCBI Blast с данными международной базы Gene Bank (совпадение должно было составлять более 99%). Выравнивание нуклеотидных последовательностей выполняли, используя алгоритм ClustalW. В ходе работ было получено, что в состав образца 1 входили микроорганизмы *Rhizobium galegae* и *Rhizobium leguminosarum*; в состав образца 2 – *Enterobacter cloacae* и *Enterobacter* sp. 638; образца 3 – *Paenibacillus polymyxa*, *Paenibacillus peoriae* и *Microbacterium testaceum*; образца 4 – *Mycobacterium gilvum* и *Microbacterium testaceum*.

Заключение. Сравнительный анализ последовательности гена 16S рРНК помогает идентифицировать бактерии, входящие в состав смешанных культур.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *CANDIDA ALBICANS*

Пашинина О.А., Карташова О.Л., Попова Л.П.

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

MOLECULAR-GENETIC CHARACTERISTIC OF *CANDIDA ALBICANS* CLINICAL ISOLATES

Pashinina O.A., Kartashova O.L., Popova L.P.

Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia

Цель – изучить молекулярно-генетические механизмы патогенности и резистентности к антимикотическим препаратам клинических изолятов *Candida albicans*.

Материалы и методы. Изучены 167 штаммов *C. albicans*, из них 29 – выделены от больных катаральным гингивитом (1 группа); 47 – сальпингоофоритом (2 группа); 54 – бронхитом (3 группа); 37 – от пациентов с дисбиозом кишечника I-III степени (4 группа). Выделение и идентификацию штаммов проводили по Р.Н. Ребровой (1989). Распространенность генетических детерминант секретируемых протеаз семейства SAP (Secreted Aspartyl Protease) и гены, кодирующие антимикотикорезистентность (CDR1, MDR1, FLU1), определяли с применением метода полимеразно-цепной реакции (ПЦР), лизаты получали с помощью реагента «ДНК-экспресс» (Литех, Россия), для амплификации использовали известные праймеры, синтезированные компанией «Синтол» (г. Москва).

Результаты. У *C. albicans* 1, 3 и 4 групп выявили 8, а у штаммов 2 группы – 5 из 10 изученных генов секретируемых аспартат протеаз. У *C. albicans* 1 группы SAP-1-3 и SAP-6 зарегистрировали в 75% случаев, SAP-4, SAP-7, SAP-9-10 – в 100%. У *C. albicans* 4 группы гены SAP-1-4, SAP-6-7 и SAP-9-10 отмечали в 25% случаев. У *C. albicans* 3 группы частота встречаемости генов SAP-1-3, SAP-6-7 и SAP-9-10 составила 25%, а SAP-4 – 50%. У изолятов 2 группы гены SAP-7 и SAP-9 обнаружили в 100%, SAP-10 – в 75%, а гены SAP-4 и SAP-6 – в 25% случаев. При анализе генетических детерминант резистентности к антимикотикам установлено, что они широко распространены среди изученных штаммов *C. albicans*. Так, у изолятов 1 группы ген MDR1 (Multiple Drug Resistance) зарегистрировали в 100% случаев, FLU1 (Fluconazole Resistance), CDR1 (*Candida* Drug Resistance) – в 75%; у штаммов 2 группы гены MDR1 и FLU1 наблюдали в 100%, а CDR1 – в 25% случаев. Все изученные генетические детерминанты резистентности выявили у 25% *C. albicans* 3 и 4 групп.

Заключение. При молекулярно-генетических исследованиях у клинических изолятов *C. albicans* установлено наличие генов секретируемых аспартат протеаз (SAP-1-4, SAP-6-7, SAP-9-10) и генов антимикотикорезистентности (MDR1, FLU1, CDR1), при этом обнаружили высокую частоту их встречаемости у *C. albicans* 1 группы по сравнению с другими изученными клиническими изолятами.

Aim is to study the molecular-genetic mechanisms of pathogenicity and resistance of *Candida albicans* clinical isolates to antifungal drugs.

Materials and methods. 167 strains of *C. albicans* were studied, 29 of them were isolated from patients with catarrhal gingivitis (group 1); 47 – with salpingoophoritis (group 2); 54 – with bronchitis (group 3); 37 – from patients with intestinal dysbiosis I-III degree (group 4). Isolation and characterization of the strains was performed according to R.N. Rebrova (1989). Prevalence of genetic determinants of secreted proteases family SAP (Secreted Aspartyl Protease) and genes encoding resistance to antifungal drugs (CDR1, MDR1, FLU1), was determined using the method of polymerase chain reaction (PCR). Lysates were

prepared using reagent "DNA-Express" (Lytech, Russia). Known primers synthesized by "Syntol" (Moscow) were used for amplification.

Results. 8 out of 10 studied genes, coding secreted aspartate proteases in 1, 3 and 4 groups of *C. albicans* were revealed, while among strains of 2 group - 5. In 1 group of *C. albicans* SAP-1-3 and SAP-6 were registered in 75% of cases, SAP-4, SAP-7, SAP-9-10 – in 100%. In group 4 of *C. albicans* genes SAP-1-4, SAP-6-7 and SAP-9-10 have been noted in 25% of cases. In group 3 of *C. albicans* frequency of genes SAP-1-3, SAP-6-7 and SAP-9-10 was 25%, and SAP-4 – 50%. In isolates of group 2 genes SAP-7 SAP-9 was found in 100%, SAP-10 – in 75%, and genes SAP-4 and SAP-6 – in 25% of cases. When analyzing genetic determinants of resistance to antifungal drugs it was established that they are widely distributed among the studied strains of *C. albicans*. Thus, in isolates of group 1 gene MDR1 (Multiple Drug Resistance) was registered in 100% of cases, FLU1 (Fluconazole Resistance), CDR1 (*Candida* Drug Resistance) – in 75%; in the strains of group 2 MDR1 and FLU1 genes were observed in 100% cases and CDR1 – in 25%. All studied genetic determinants of resistance have been detected in 25% *C. albicans* of 3 and 4 groups.

Conclusion. Molecular-genetic study of *C. albicans* clinical isolates established existence of genes of secreted aspartate proteases (SAP-1-4, SAP-6-7, SAP-9-10) and genes of resistance to antifungal drugs (MDR1, FLU1, CDR1). High frequency of their occurrence in *C. albicans* of 1 group in comparison with other studied clinical isolates was found.

СТАФИЛОКОККИ В ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЕ ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ПНЕВМОНИЙ

¹Петров В.А., ²Гасретова Т.Д., ¹Мощенко С.В., ¹Воробьева Е.Н., ²Алутина Э.Л.

¹1002 Центр санитарно-эпидемиологического надзора Минобороны России; ² Ростовский государственный медицинский университет МЗ РФ, Ростов-на-Дону, Россия

STAPHYLOCOCCUS IN ETHIOLOGIC STRUCTURE OF COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA

¹Petrov V.A., ²Gasretova T.D., ¹Moshenko S.V., ¹Worobeva E.N., ²Alutina E.L.

¹1002 Center of sanitarian-epidemiology control Ministry of Russia Defense; ² Rostov State Medical University of MH RF, Rostov-on-Don, Russia

Цель исследования – изучение роли *Staphylococcus aureus* в этиологической структуре внебольничных пневмоний среди военнослужащих и связи с показателями стафилококкового носительства.

Материалы и методы. За период 2013-2014 гг. обследовано 2775 военнослужащих, больных внебольничной пневмонией, выделено 2332 культуры, что составило 84,0% от обследованных лиц. Идентификацию микроорганизмов и определение их чувствительности к антимикробным препаратам проводили с помощью автоматизированной системы «Vitek 2 Compact» Biom.

Результаты. В этиологической структуре 17,7% составили *Strep-tococcus pneumoniae*, 21,4% – *Streptococcus pyogenes*, у 49,1% пациентов выявили условно-патогенные микроорганизмы (*Streptococcus viridens*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* и грибы рода *Candida*). У 11,0% больных пневмонии были вызваны *S. aureus*. При обследовании на стафилококковое носительство лиц (217 обследованных), имеющих контакты с больными внебольничной пневмонией, отмечали высокие показатели носительства. Показатель более 10³ КОЕ наблюдали у 26,9-28,0% сотрудников кадетского корпуса и воспитателей, у работников питания – 31,4% и у сотрудников лечебных учреждений – 5,7%.

Большинство штаммов *S. aureus*, выделенных от больных и носителей, обладали устойчивостью к бензилпенициллину, амоксициллину, ампициллину, тетрациклину и эритромицину.

Заключение. Установили наличие корреляции между показателями заболеваемости стафилококковой пневмонией и стафилококковым носительством.

ВЛИЯНИЕ ВИРУСА ГРИППА НА КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ЭНДОТЕЛИЯ EAHy 926

Прочуханова А.Р.¹, Люблинская О.Г.², Зенин В.В.², Азаренок А.А.¹, Жилинская И.Н.¹

¹НИИ гриппа МЗ РФ; ² Институт цитологии РАН Санкт-Петербург, Россия

INFLUENZA VIRUS EFFECT ON ENDOTHELIUM CELL CULTURE EAHy 926 CYCLE DIVISION

Prochukhanova A.R.¹, Lublinskaya O.G.², Zenin V.V.², Azarenok A.A.¹, Zhilinskaya I.N.¹

¹ Institute of Influenza; ² Institute of Cytology, St. Petersburg, Russia

Известно, что различные вирусы, воспроизводящиеся в клеточных культурах, приводят к блокированию («аресту») прохождения клетками тех или иных фаз клеточного цикла. Ранее нами было показано, что вирусы гриппа (H3N2, H5N1, H1N1pdm) способны репродуцироваться в клетках эндотелия и вызывать гибель этих клеток путем апоптоза.

Цель исследования – выяснить, влияет ли репродукция вируса гриппа на динамику клеточного цикла клеток эндотелия EAHy 926 (endothelial hybrid cell line).

Материал и методы. Для исследования был взят вирус гриппа A/Брисбейн/10/2007/(H3N2). Предварительно анализировали динамику роста клеток эндотелия EAHy 926 в зависимости от плотности посева для получения культуры, синхронизированной в фазе G0/G1 клеточного цикла. Распределение клеток по фазам клеточного цикла измеряли с помощью проточной цитометрии на цитометре Episc (Beaman Coulter, США) после окрашивания ядер пермеабилizованных клеток иодистым пропидием. Синхронизацию клеточной культуры EAHy 926 проводили, используя эффект контактного торможения в плотной культуре клеток, активируя пролиферацию пересевом этой культуры при низкой посевной дозе. Посевную дозу подбирали таким образом, чтобы через 12 ч после пересева клетки находились в фазе G0/G1 клеточного цикла, а через 36 часов – наблюдалась активная пролиферация.

Синхронизированную в фазе G0/G1 клеточную культуру EAHy 926 через 12 ч после пересева инфицировали вирусом в заражающей дозе 0,01 ТЦД₅₀ (тканевая цитопатическая доза) на клетку в течение 1 часа. После этого клетки отмывали и продолжали культивировать в среде, не содержащей вируса, в течение 3 суток. Параллельно, в качестве контроля, культивировали незараженные клетки EAHy 926. Каждые сутки часть клеток, инфицированных и контрольных, пермеабилizовали, окрашивали иодистым пропидием и измеряли в них количество ДНК на проточном цитометре.

Результаты. При цитометрическом анализе клеток EAHy 926 выявили различия в динамике клеточного цикла между контролем и опытом. Так, через сутки после заражения 78% клеток находились в фазе G0/G1, 16% – в S фазе, 6% – в G2/M, тогда как в контроле 71% клеток было в фазе G0/G1, 13% – в S, 16% – в G2/M. На вторые сутки доля S-фазных клеток в зараженной культуре возросла до 20% и продолжала превышать эту долю в контрольной культуре. На третьи сутки после заражения достоверных различий контроля и опыта по количеству ДНК не отмечали, но в опыте наблюдали нарастание клеточной гибели.

Заключение. Согласно полученным результатам, имеет место изменение динамики клеточного цикла в эндотелии под воздействием вируса гриппа.

Various viruses that replicate in cell cultures are known to induce arrest of the transition between different cell-cycle phases. Earlier we showed that influenza A(H3N2), A(H5N1) and (H1N1)pdm09 are able to reproduce in endothelial cells and induce apoptosis of the said cells.

The purpose of this study is to determine whether influenza virus reproduction can affect the cell-cycle dynamics of EAHy 926 endothelial cells.

Materials and methods. For the purpose of the study we took A/ Brisbane/10/2007/ (H3N2) influenza virus strain. We analyzed the growth rate of EAHy 926 cells based on the seeding density of the culture synchronized in G0/G1 phase. Cell phase distribution was measured on an Episc flow cytometer after staining permeabilized cell nuclei with propidium iodide. Cell synchronization was done through contact inhibition in dense cell culture. Proliferation was achieved by reseeding the culture at a low dosage. Cell seeding dosage was determined so that 12 hours after reseeding cells would be in G0/G1 phase, and 36 hours

after reseeded cell proliferation would be in progress.

12 hours after reseeded, the EAhy 926 culture synchronized in G0/G1 phase was inoculated with 0,01 TCD₅₀ of virus per cell over a period of 1 hour. After that the cells were washed and cultured in a virus-free medium for 3 consecutive days. Noninoculated (control) EAhy 926 cells were cultured simultaneously. Every day a portion of inoculated and control cells were permeabilized, stained with propidium iodide, and DNA quantity was measured using flow cytometry.

Results. Flow cytometry showed cell-cycle differences between infected cells and control. 24 hours after inoculation 78% of cells were in phase G0/G1, 16% – in phase S, 6% – in phase G2/M, while 71% of control cells were in phase G0/G1, 13% – in phase S, 16% – in phase G2/M. On the second day after inoculation the share of cells in S phase rose to 20% and continued to exceed that of control group. On the third day no significant differences in DNA quantity between the groups were observed, however cell death was increasing in the infected group.

Conclusion. According to the results of this study influenza virus affects the endothelial cell-cycle dynamics.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИДА ДЕРМАТОМИЦЕТОВ РОДА *TRICHOPHYTON* ПО ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ РЕГИОНА ITS: ПОИСК ОПТИМАЛЬНОГО АЛГОРИТМА

Пчелин И.М., Руднева М.В., Чилина Г.А., Краснова Э.В., Тараскина А.Е.

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

SPECIES IDENTIFICATION IN DERMATOMYCETES OF THE *TRICHOPHYTON* GENUS BY ITS REGION SEQUENCING: THE SEARCH FOR OPTIMAL ALGORITHM

Pchelin I.M., Rudneva M.V., Chilina G.A., Krasnova E.V., Taraskina A.E.

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

Trichophyton spp. – одни из самых распространенных объектов современной микологии, но никогда не имели стабильности в таксономии, идентификации и обозначении. В настоящее время род *Trichophyton* включает в себя 163 вида и разновидности, согласно номенклатурной базе данных (Species Fungorum, 2015). Определение вида представителей рода *Trichophyton* часто эпидемиологически (определение пути заражения) и этически (правильная регистрация в базах данных) важно. Ныне референтным методом определения видовой принадлежности микромицетов является протокол M18-A института клинических и лабораторных стандартов (CLSI), по которому идентификацию грибов необходимо проводить с применением ПЦР, с последующим секвенированием региона внутренних транскрибируемых спейсеров генов рРНК (ITS), но применение, даже такого подхода, не всегда гарантирует безошибочное определение. Трудности видовой идентификации *Trichophyton* spp. – актуальная тема современных молекулярно-биологических исследований.

Цель работы – поиск оптимального алгоритма анализа и интерпретации данных, полученных при секвенировании ITS региона микромицетов *Trichophyton* spp.

Материалы и методы. В работу были включены 40 штаммов *Trichophyton* spp. из Всероссийской коллекции патогенных грибов. Видовую идентификацию основывали на определении нуклеотидной последовательности регионов ITS с использованием праймеров ITS5: gga-agt-aaa-agt-cgt-aac-aag-g и ITS4: tcc-tcc-gct-tat-tga-tat-gc. Секвенирование ДНК выполняли по методу Сэнгера на генетическом анализаторе ABI Prizm 3500 (Applied Biosystems, США). В анализ были взяты 415 нуклеотидов, кодирующих фрагмент транскрибируемого спейсера ITS1, ген 5,8S рибосомной РНК и фрагмент спейсера ITS2.

Результаты. Наибольшую сложность для видовой идентификации представлял комплекс видов *T. mentagrophytes* в связи с недавними изменениями в номенклатуре и слабой генетической дивергенцией. Разработанный алгоритм включает в себя для «простых» случаев, за пределами данного комплекса, как правило, достаточ-

но сравнения полученной последовательности региона ITS с референтными последовательностями, через использование сервисов выравнивания, расположенных на сайтах баз данных MycoBank <http://www.mycobank.org/BioMICSSequences.aspx>, UNITE <https://unite.ut.ee/analysis.php> и CBS <http://www.cbs.knaw.nl/Collections/BioMICSSequences.aspx>. В случаях, когда при помощи сервиса выравнивания не удается получить однозначный ответ, необходимо прибегать к самостоятельной сборке выравнивания, например, в программе SeaView с типовыми последовательностями. Наиболее полный список типовых последовательностей региона ITS дерматомицетов представлен в статье Gräser et al. «The new species concept in dermatophytes – a polyphasic approach» (Mycopathologia. – 2008. – Vol. 166. – P. 239-256).

Заключение. Наибольшее значение для определения трихофитонов, изолируемых в С.-Петербурге, имеют последовательности *T. tonsurans* EF043270; *T. interdigitale* (антропофильный вариант) AF168124, AF506033; *T. interdigitale* (зоофильный) AY062119, AF506034, AF170452 и AB246678; *T. mentagrophytes sensu stricto* Z97995; *T. benhamiae* Z98016; *T. rubrum* Z97993; *T. violaceum* AJ270811.

The dermatophytes of the genus *Trichophyton* are among the most frequently observed organisms in modern mycology, yet there has never been stability in the taxonomy, identification and naming. The genus *Trichophyton* currently comprises 163 species and varieties according to nomenclature database (Species Fungorum, 2015). The identification of these species is often epidemiologically (determining the route of infection) and ethically (correct registration in databases) important. Currently the reference method for dermatophyte species identification is CLSI M18-A protocol (Clinical and Laboratory Standards Institute). According to this protocol fungal identification is carried out with the aid of PCR, followed by ribosomal RNA gene sequencing (ITS region). Yet, this approach does not necessary warrant precise identification. The difficulties in *Trichophyton* identification are fruitful topic for modern molecular biological investigation.

The aim of present study – the search of optimal algorithm for analysis and interpretation of ITS-sequencing data from *Trichophyton* spp.

Materials and methods. Forty *Trichophyton* strains from all-Russian Collection of Pathogenic Fungi were taken in the investigation. Species identification was based on the ITS region sequencing from primers ITS5: gga-agt-aaa-agt-cgt-aac-aag-g and ITS4: tcc-tcc-gct-tat-tga-tat-gc. This was carried out by Sanger dideoxy sequencing on ABI Prizm 3500 genetic analyzer (Applied Biosystems, USA). The resulting alignment comprised 415 base pairs: ITS1, partial sequence, gene of 5,8S ribosomal RNA, complete sequence and ITS2, partial sequence.

Results. The most complicated was species identification in *T. mentagrophytes* complex. This was due to recent nomenclatural changes and only slight genetic divergence. The algorithm developed includes: in “simple” cases, outside *T. mentagrophytes* species complex in most cases it is enough to compare determined ITS sequence with reference sequences. This can be done by sequence alignment services from following databases: MycoBank <http://www.mycobank.org/BioMICSSequences.aspx>, UNITE <https://unite.ut.ee/analysis.php> and CBS <http://www.cbs.knaw.nl/Collections/BioMICSSequences.aspx>. In the cases when alignment service cannot provide unambiguous answer, one should prepare custom alignment with type sequences, for example, in SeaView program. The most inclusive list of type sequences is presented in the paper by Gräser et al. “The new species concept in dermatophytes – a polyphasic approach”. Mycopathologia (2008) 166: 239-256. The key results of analysis are presented on the fig. 1.

Conclusion. For the purpose of the identification of *Trichophyton* spp, isolated in St. Petersburg, the most significant type sequences are following: *T. tonsurans* EF043270; *T. interdigitale* (anthropophilic strains) AF168124, AF506033; *T. interdigitale* (zoophilic) AY062119, AF506034, AF170452 и AB246678; *T. mentagrophytes sensu stricto* Z97995; *T. benhamiae* Z98016; *T. rubrum* Z97993; *T. violaceum* AJ270811.

МИКРОБИОТА ПОВЕРХНОСТНЫХ БИОТОПОВ ПРИ НЕКОТОРЫХ РЕВМАТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Романов В.А.

Ярославский государственный медицинский университет МЗ РФ, Ярославль, Россия

MICROBIOTA OF SURFACE BIOTOPES IN SOME RHEUMATIC DISEASES

Romanov V.A.

State Medical University, Yaroslavl, Russia

Цель – исследование аэробной аутомикробиоты поверхностных биотопов (слизистые оболочки носа и зева, участки пораженной и непораженной кожи) у больных системной красной волчанкой (СКВ), системной склеродермией (ССД), ревматоидным артритом (РА).

Материалы и методы. Обследовано с помощью общепринятых бактериологических методов 24 больных СКВ, 9 – ССД, 11 – РА в возрасте от 38 до 75 лет. Группу сравнения составили 20 больных того же возраста и пола, страдавшие сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Результаты. Выявили уменьшение видового и родового представительства аутомикробиоты поверхностных биотопов при СКВ, ССД, РА. Установлено преобладание золотистого стафилококка в составе микробиоты слизистой оболочки полости носа больных СКВ и РА. У пациентов с СКВ наблюдали возрастание частоты носительства патогенных кокков (*S. aureus*, *S. pyogenes*) с увеличением активности патологического процесса. Видовой состав микробиоты с поверхности сосудистой «бабочки» при СКВ был более разнообразным и достоверно чаще (в 3,75 раза) содержал патогенные микробы, чем экзантема другой локализации.

Микробиота интактного кожного покрова у больных ССД была более разнообразной и включала 9 видов микроорганизмов, 5 из которых принадлежали к роду *Staphylococcus*. Наиболее часто высеивали эпидермальный стафилококк (87,5%), реже – микрококк (62,5%). У 25% больных ССД с поверхности кожного покрова предплечья изолировали коринеформные бактерии и неидентифицированные Gr(+) спорообразующие палочки. У 50% больных ССД очаги кожных поражений были контаминированы *S. aureus*.

Микробиота интактного кожного покрова больных РА была представлена 6 видами бактерий; наиболее часто высеивали эпидермальный стафилококк (90,9%), значительно реже – золотистый стафилококк (27,3%).

Заключение. Ревматические заболевания характеризуются скудностью видового разнообразия аутомикробиоты кожи на фоне повышенной обсемененности поверхностных биотопов патогенными кокками, что может выполнять роль спускового крючка (триггера) в развертывании аутоиммунного процесса.

The aim was to study the aerobic microbiota surface biotopes (mucous membranes of the nose and throat, areas affected and unaffected skin) in patients with systemic lupus erythematosus (SLE), systemic scleroderma (SSC) and rheumatoid arthritis (RA).

Materials and methods. 24 patients with SLE, 9 – with SSC and 11 – with RA, aged from 38 to 75 years were examined using bacteriological methods. The comparison group consisted of 20 patients of the same age and sex with cardiovascular diseases.

Results. A decrease in species and genus of microbiota surface of biotopes in SLE, SSC, RA was found. It was established the prevalence of *Staphylococcus aureus* in the structure of the microbiota of the nasal cavity mucous membrane of patients with SLE and RA. The increasing frequency of pathogenic cocci (*S. aureus*, *S. pyogenes*) with an increase in the activity of the disease process was observed in patients with SLE. The species structure of the microbiota with affected surface of skin in SLE was more varied and significantly more often contain pathogenic microbes, than exantema other localization and unaffected skin. Intact skin microbiota of patients with SLD was more varied and included 9 species of microorganisms, of which 5 belonged to the genus *Staphylococcus*. *Staphylococcus epidermidis* (87,5%) was the most commonly isolated. *Micrococcus* – with less frequently (62,5%). In 25% of patients with SSC from the skin surface of the forearm were isolated *E. coli* and grampositive spore-forming *Bacillus*. At 50% of patients with SSC skin lesions were contaminated by *S. aureus*. Intact skin microbiota of patients with RA was represented by 6 species of bacteria; the most commonly isolated *S. epidermidis* (90,9%) and less often – *S. aureus* (27,3%).

Conclusion. Rheumatic diseases are characterized by a scarcity of species diversity of skin microbiota with increased contamination of surface biotopes of pathogenic cocci that can serve as a trigger of the autoimmune process deployment.

ИНФЕКЦИИ, ПЕРЕДАВАЕМЫЕ ПОЛОВЫМ ПУТЕМ: ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ В ДИАГНОСТИКЕ И КОНТРОЛЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ

Романова Н.В., Дарсалия И.А., Романова Г.И.

Ярославский государственный медицинский университет МЗ РФ, Ярославль, Россия

SEXUALLY TRANSMITTED INFECTIONS: POLYMERASE CHAIN REACTION IN DIAGNOSIS AND MONITORING THE EFFECTIVENESS OF THERAPY

Romanova N.V., Darsalia I.A., Romanova G.I.

State Medical University, Yaroslavl, Russia

Цель работы – диагностика хронических инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР); изучение динамики иммунологических показателей при этих заболеваниях на фоне применения иммуномодуляторов и оценка их влияния на эффективность проводимого лечения.

Материалы и методы. Обследовано с помощью иммунологических методов и ПЦР 3 группы по 22 пациентов в возрасте от 20 до 46 лет с различными урогенитальными инфекциями, включая хламидиоз. Проводили индикацию методом ПЦР 11 возбудителей инфекций, передающихся половым путем: *Chlamidia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealiticum*, *Gardnerella vaginalis* и пр., до начала терапии и после ее окончания. В комплекс лечения каждой группы включали полиоксидоний, ликопид или метилурацил в терапевтических дозировках.

Результаты. По данным ПЦР-диагностики, моноинфицирование хламидиями отмечали в 40,9%, наличие микст-инфекций – в 59,1%, ассоциации трех и более возбудителей – в 31,8%. По результатам иммунологического мониторинга при первичном исследовании наиболее информативными были показатели фагоцитоза (снижение уровня продукции активных форм кислорода с уменьшением резервных возможностей фагоцитов у всех пациентов).

После окончания курса лечения, ПЦР была отрицательной в 92% случаев при назначении полиоксидония и в 86% – ликопида. Полная эрадикация возбудителей не была достигнута у пациентов, инфицированных тремя и более возбудителями. На фоне терапии метилурацилом, полной эрадикации возбудителей не произошло в 45%. По завершении курса лечения достоверную позитивную динамику показателей фагоцитоза наблюдали только у пациентов, получавших полиоксидоний или ликопид.

Заключение. ПЦР является высокочувствительным методом диагностики ИППП и контроля за эрадикацией возбудителей. Использование иммуномодуляторов способствует улучшению ряда показателей иммунной системы и своевременной эрадикации возбудителей, особенно – хламидий.

The aim of this study - diagnostic chronic sexually transmitted infections (STI) with polymerase chain reaction (PCR), study of the dynamics some immunological parameters in treatment these diseases with the use of immunomodulators and to assess their impact on the effectiveness of the treatment STI.

Materials and methods. Examined using immunological methods and PCR 3 groups, 22 patients aged from 20 to 46 years old with various STI, including chlamydia. Performed indication with PCR of 11 pathogens STI: *Chlamidia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealiticum*, *Gardnerella vaginalis*, etc., before and after the therapy. In the complex treatment of each group included polyoxidonium, licopid or metiluracil in therapeutic dosages.

The results. According to PCR-diagnostics, mono-infection of chlamydia was in 40.9%, mixed infections in 59.1% of cases, association of three or more microbial agents in 31.8%. Based on the results of immunological monitoring during the primary study the most informative indicator was phagocytosis (to reduce production of reactive oxygen species with reduced reserve capacity of phagocytes in all patients).

After the treatment the PCR was negative in 92% of cases when prescribe polyoxidonium and in 86% - with licopid. Complete eradication

for pathogens has not been achieved in patients infected with three or more microbial agents. While therapy with metiluracil, complete eradication of pathogens occurred in 45%. Upon completion of the course of treatment, a reliable positive dynamics of phagocytosis watched only in patients treated with polyoxidonium or licopid.

Conclusion. PCR is a highly sensitive method for diagnosis of STI and eradication of pathogens control. The use of immunomodulators improves a number of indicators of immune system and timely eradication of pathogens, especially chlamydia.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ И ЭПИДЕМИОЛОГИЯ РИККЕТСИЙ И РИККЕТСИОЗОВ ГРУППЫ КЛЕЩЕВОЙ ПЯТНИСТОЙ ЛИХОРАДКИ В РОССИИ И КАЗАХСТАНЕ

Рудаков Н.В.¹, Шпынов С.Н.¹, Егембердыева Р.А.², Самойленко И.Е.¹, Кумпан Л.В.¹

¹ Омский НИИ природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора, Россия; ² Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова, Алматы, Казахстан

MOLECULAR MICROBIOLOGY AND EPIDEMIOLOGY OF RICKETTSIAE AND RICKETTSIAL TICK-BORNE SPOTTED FEVER GROUP IN RUSSIA AND KAZAKHSTAN

Rudakov N.V.¹, Shpynov S.N.¹, Egemberdyeva R.A.², Samoylenko I.E.¹, Kumpan L.V.¹

¹Omsk Research Institute of natural focal infections Rospotrebnadzor, Russia; ²Kazakh National Medical University S.D. Asfendiyarov, Almaty, Kazakhstan

Цель работы – характеристика распространения риккетсий и риккетсиозов, передаваемых иксодовыми клещами, в России и Казахстане.

Методы. Использовали комплекс эпидемиологических, микробиологических и молекулярно-биологических методов.

Результаты. Из трех подвидов *Rickettsia sibirica* в России доказано наличие *R. sibirica* subsp. *sibirica* и *R. sibirica* subsp. VJ-90. Верифицированные случаи клещевого риккетсиоза (КР) или сибирского клещевого тифа (СКТ) связаны с *R. sibirica* subsp. *sibirica*. Получены данные о вероятной патогенности *R. sibirica* subsp. VJ-90. Нозоо-реал КР в России охватывает 17 субъектов юга Сибири и Дальнего Востока. Заболевания регистрируют преимущественно в Алтайском и Красноярском краях, Республике Алтай (более 80% по РФ). В Казахстане более 90% заболеваний приходится на Кызылординскую и Северо-Казахстанскую (по 33%), Павлодарскую (17,7%) и Восточно-Казахстанскую (9,3%) области.

R. heilongjiangensis выявили в «пятнах» *Haemaphysalis concinna* на Дальнем Востоке (Приморский край, клещи *H. concinna*), в Алтайском (*H. concinna*) и Красноярском (*H. concinna*, *Dermacentor nuttalli*) краях, выделены штаммы. Астраханскую пятнистую лихорадку (АПЛ) изучали Тарасевич с соавт. (1991, 2002), возбудитель – *Rickettsia sibirica* subsp. *caspiensis*. Кроме Астраханской области, агент был генотипирован в клещах *Rhipicephalus pumilio* на смежных территориях России (Калмыкия, Волгоградская область) и Казахстана. Риккетсии, генетически близкие *Rickettsia helvetica*, обнаружены нами в Омской области в клещах *Ixodes persulcatus*, Нефедовой с соавт. (2008) – у пациентов в Пермском крае с лихорадочным заболеванием после присасывания клещей. Патогенная *R. aeschlimannii* генотипирована в клещах *Haemaphysalis punctata* из Алма-Атинской области Казахстана, в Ставропольском крае – в *Hyalomma marginatum*. *R. slovaca* – этиологический агент синдрома TIBOLA, генотипирована в клещах *Dermacentor marginatus* в Воронежской области и Ставропольском крае; штамм изолирован в Курганской области. *R. raoultii* (генотипы RpA4, DnS14, DnS28), также вероятный агент синдрома TIBOLA, распространена в России и за рубежом в клещах рода *Dermacentor*.

Заключение. В соответствии с нашими предложениями и приказом Росстата от 20.12.2012 г. № 645, внесены изменения в формы №1 и №2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях», с 2013 г. введена регистрация дополнительно АПЛ, гранулоцитарного анаплазмоза человека (ГАЧ) и моноцитарного эрлихиоза человека (МЭЧ).

ВНУТРИВИДОВОЕ ТИПИРОВАНИЕ МИКРОМИЦЕТОВ-БИОДЕСТРУКТОРОВ STACHYBOTRYS SPP. НА ОСНОВЕ МУЛЬТИЛОКУСНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Руднева М.В., Лавникович Д.М., Доршакова Е.В., Игнатьева С.М. Северо-западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, Санкт-Петербург, Россия

INTRASPECIES TYPING OF THE MICROMYCETES-DESTRUCTORS STACHYBOTRYS SPP. BY MULTILOCUS SEQUENCING

Rudneva M.V., Lavnikovich D.M., Dorshakova E.V., Ignatieva S.M. North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Kashkin Research Institute of Medical Mycology, St. Petersburg, Russia

Грибы рода *Stachybotrys* относят к наиболее опасным токсинообразующим микромицетам-биодеструкторам с доказанными межштаммовыми вариациями в продуцировании микотоксинов. Многие авторы отмечают, что на основании изучения нуклеотидных последовательностей грибов можно предсказать их токсигенные свойства. Наибольшей вариабельностью у стахиботрисов обладают гены триходииенсинтазы (белка, участвующего в метаболизме микотоксинов) и хитинсинтазы (энзима, отвечающего за образование клеточной стенки).

Цель исследования – проведение внутривидового типирования на основе мультилокусного секвенирования для выделения генетически обусловленных токсигенных и нетоксигенных штаммов *Stachybotrys* spp.

Материалы и методы. В исследование было включено 16 штаммов *Stachybotrys* spp., биохимически протестированных на продуцирование микотоксинов. ДНК выделяли из десятидневных культур *Stachybotrys* spp. по методу СТАВ. Амплификацию гена триходииенсинтазы осуществляли по участкам Tri5 и STOX, гена хитинсинтазы – по участку Chs. Секвенирование выполняли по методу Сэнджера на генетическом анализаторе ABI Prizm 3500. В программе MEGA 5.2 проводили множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей и оценивали их филогенетическую идентичность, основанную на числе пар общих оснований (метод UPGMA).

Результаты. Подобрана оптимальная программа амплификации стахиботрисов для локусов Tri5, STOX и Chs. Показано, что ПЦР идет наиболее эффективно при температуре отжига 52 °С, с количеством ДНК 0,5 нг на реакцию. Биохимическим методом выявили 10 высокотоксичных штаммов, продуцирующих микотоксины в высоких концентрациях, и 6 штаммов средней токсичности. Во всех исследуемых образцах обнаруживали ген триходииенсинтазы, что доказывает токсичность образцов. Построены филогенетические дендрограммы, отражающие степень сходства между штаммами. Анализ дендрограмм помогает выделить несколько групп штаммов с близкими нуклеотидными последовательностями, которые сходны также по количеству продуцируемых микотоксинов.

Заключение. Метод мультилокусного секвенирования может быть применен для оценки токсигенных свойств *Stachybotrys* spp.

Micromycetes *Stachybotrys* spp. are commonly found in water-damaged buildings and often considered to be an indicator organism of indoor air problems. This fungus is known to produce mycotoxins that have been associated with a number of human and veterinary health problems. Many investigators notice variation in the levels of toxin production among *Stachybotrys* individuals that can be predicted by nucleotide analysis. The most variable genes of *Stachybotrys* are the trichodiene synthase gene and the chitin synthase gene.

The aim of this study is intraspecies typing of *Stachybotrys* spp. by multilocus sequencing for discriminating toxic and nontoxic strains.

Materials and methods. We examined 16 strains *Stachybotrys* spp. All isolates were tested biochemically, the quantity of mycotoxins were measured. DNA was extracted from 10-day samples using a modification of a CTAB extraction protocol. PCR was performed by the trichodiene synthase loci using primer pairs Tri5 and STOX, and by the chitin synthase loci with primers Chs. Sequencing was performed by Sanger method using analyzer ABI Prizm 3500. Sequences obtained from Tri5, STOX, and Chs were aligned in the program MEGA 5.2. Isolates were analyzed by unweighted pairgroup method of arithmetic averages (UPGMA) cluster analysis.

Results. Amplification program were modified. Reaction performed with 0,5 ng of DNA and annealing temperature 520 C. There were 10 high-toxic and 6 low-toxic strains investigated biochemically. The trichodiene synthase gene fragment presented in all samples. Phylogenetic trees were constructed. We investigated several distinct groups of strains with similar sequences. These strains in each group also had similar amount of mycotoxins.

Conclusion. The intraspecies typing by multilocus sequencing can be used for discriminating toxic and nontoxic strains of *Stachybotrys* spp.

ВЛИЯНИЕ АЛАНИНА И АСПАРТАТА НА РОСТ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*; АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ МЫШЕЙ ПРИ МОДЕЛЬНОЙ СТАФИЛОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ

Рюмина М.В., Габалов К.П., Малинин М.Л.

Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт, Саратов, РФ

INFLUENCE OF ALANINE AND ASPARTATE ON GROWTH OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*; ACTIVITY OF MACROPHAGES AND SURVIVAL OF MICE UNDER A MODEL OF STAPHYLOCOCCAL INFECTION

Rumina M.V., Gabalov K.P., Malinin M.L.

Saratov scientific-research veterinary institute, Saratov, Russia

Цель работы – изучение влияния различных концентраций аланина и аспартата на рост *Staphylococcus aureus* и течение стафилококковой инфекции.

Материалы и методы. В работе использовали клинические изоляты *S. aureus*. Исследования *in vitro* проводили по общепринятым методикам. Эксперименты *in vivo* выполняли на белых мышях. Мышь вводили внутрибрюшинно: аланин – 20 мг, аспартат – 2 мг в 0,5 мл 0,15M NaCl, *S. aureus* – $1,5 \cdot 10^9$ КОЕ на мышь.

Результаты. Изоляты *S. aureus* культивировали *in vitro* в плазме крови мышей при различных концентрациях L-аланина и L-аспартата. Изучали влияние этих аминокислот на фагоцитоз стафилококка перитонеальными клетками мышей. Установлено, что аланин в концентрациях 350-700 мкМ/л и аспартат в концентрациях 14-43 мкмоль/л тормозят рост *S. aureus* в плазме крови, но, в то же время, стимулируют фагоцитоз. Наиболее выраженным данный эффект был при внесении 350 мкМ/л аланина и 14 мкМ/л аспартата.

При проведении экспериментов *in vivo* мышей заражали трехкратной LD50 изолята *S. aureus* 1 при одновременном введении указанных выше аминокислот.

Введение аланина и аспартата в дозах 350 мкМ/л и 14 мкМ/л, соответственно, способствовало выживаемости мышей – смертность животных снижалась на 50-85%.

Выводы. Таким образом, аланин и аспартат в высоких концентрациях ингибируют рост *S. aureus*, одновременно стимулируя его фагоцитоз, что может положительно влиять на течение и исход заболеваний, вызванных стафилококками.

Purpose – influence of different concentrations of alanine and aspartate on growth of *Staphylococcus aureus* and on Staphylococcal infection.

Materials and methods. Clinical isolates of *S. aureus* were used in research. *In vitro* tests were performed by standard methods. Mice were intraperitoneally injected: alanine – 20 mg, aspartate – 2 mg in 0.5 ml of 0.15 M NaCl, *S. aureus* – $1,5 \cdot 10^9$ cells per mouse.

Results. Isolates of *S. aureus* had been culturing *in vitro* in mouse blood plasma under different concentrations of L-alanine and L-aspartate. Influence of these amino acids for the phagocytosis of staphylococcus by peritoneal cells of mice had been studied. It was found that addition of 350-700 μmol/l alanine and/or 14-43 μmol/l aspartate inhibits the growth of *S. aureus* in the blood plasma, but at the same time, stimulates the phagocytosis. This effect was the most expressed for 350 μmol/l of alanine and 14 μmol/l of aspartate.

In experiments *in vivo* the mice were infected triple, LD50 of *S. aureus* is 1. Simultaneously amino acids were injecting.

The introduction of 350 μmol/l alanine and 14 μmol/l aspartate promoted the survival of mice – animal mortality decreased at 50-85%.

Conclusions. Thus, alanine and aspartate in high concentrations inhibit the growth of *S. aureus* and promote its phagocytosis. Alanine and aspartate are able to positively influence to the course and outcome of

diseases caused by staphylococci.

СВЕРХСТАБИЛЬНЫЕ АМИНОКИСЛОТНЫЕ САЙТЫ В ПЕРВИЧНОЙ СТРУКТУРЕ ЛАНОСТЕРОЛ-14-А-ДЕМЕТИЛАЗ

Рябинин И.А., Богданова Т.В., Васильев О.Д.

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

HYPERSTABLE AMINO ACID SITES IN PRIMARY STRUCTURES OF LANOSTEROL-14-DEMETHYLASES

Ryabinin I.A., Bogdanova T.V., Vasilyev O.D.

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

Азольные антимикотики – ведущий класс противогрибковых препаратов, применяемых как при поверхностных, так и при инвазивных микозах. Мишенью действия этих средств является ланостерол-14-α-деметилаза (CYP51, EC:1.14.13.70) – один из консервативных ферментов биосинтеза стероидов, принадлежащий к семейству цитохрома p450.

Цель работы – поиск аминокислотных сайтов, сохраняющих свое положение в первичных последовательностях CYP51 у различных живых организмов.

Материалы и методы. Для поиска первичных структур CYP51 использовали базу данных BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). В качестве последовательности для сравнения выбрали 4LXJ_A из *Saccharomyces cerevisiae*. Отобрали последовательности, принадлежащие 4 прокариотам и 27 видам эукариот из различных крупных таксонов, в том числе – 13 видам микромицетов. Последовательности сравнили с помощью алгоритма COBALT (Constraint-based Multiple Alignment Tool). Наложением найденных сверхстабильных сайтов на последовательность 4LXJ_A выяснили их связь с элементами вторичной структуры и сайтами активного центра.

Результаты. Обнаружили всего 12 аминокислотных сайтов, положение которых в первичной структуре стабильно у различных живых организмов, но расстояния между ними не вполне фиксированы. Оказалось, что эти сайты представлены единичными аминокислотами, лишь в одном случае – двумя. 5 из этих аминокислот являются сайтами прикрепления гема, еще 3 – расположены вблизи центров связывания этого кофактора. Четыре аминокислоты находятся вне активного центра, очевидно, их наличие является обязательным для правильной организации третичной структуры фермента, что необходимо для реализации каталитической активности. Также установили положение данных аминокислот в спиральных типа α и 3/10, β-складчатых структурах и линейных участках. Ни один из сверхстабильных сайтов не был связан с прикреплением ланостерола.

Заключение. Полученными данными показан яркий аминокислотный полиморфизм фермента ланостерол-14-α-деметилазы, которым можно объяснить избирательное действие антимикотиков азольного ряда на микромицеты. Возможно, изучение полиморфизма CYP51 у штаммов грибов не только поможет прогнозировать их чувствительность к азолам, но и одновременно проводить экспертную идентификацию видов-патогенов.

Azoles are one of the leader class antifungal agents which are applied against superficial and invasive mycoses. The target of action for these drugs is lanosterol-14-α-demethylase (CYP51, EC:1.14.13.70) – one of the basic enzymes in steroids biosynthesis belongs to cytochrome p450 family.

The aim of this study is a search of amino acid sites with stable position in primary structures of CYP51 in different living organisms.

BLAST database (Basic Local Alignment Search Tool) was applied for searching of CYP51 primary structures. 4LXJ_A from *Saccharomyces cerevisiae* was used as a sequence of comparison. Amino acid sequences belonging to 4 species of prokaryotes and 27 species of eukaryotes from different taxa, including 13 species of micromycetes, were collected. Sequences were compared with using COBALT algorithm (Constraint-based Multiple Alignment Tool). The relationship between hyperstable amino acid sites and elements of secondary structure and sites of active center were established by overlaying of hyperstable sites on annotated sequences 4LXJ_A.

In result of our study 12 amino acid sites with stable position in prima-

ry structure in different living organisms were found. Distances between them are not completely fixed. As it has appeared, these sites were performed by single amino acids, except 1 consisting of 2 residues. 5 of these amino acids are sites for haem fixing, 3 are near the centers of haem attachment. 4 amino acid residues are situated out of active center. Obviously, their presence is required for proper organization of tertiary structure which is necessary for catalytic activity. Positions of stable amino acid in spirals of types α and $3/10$, β -structures and in linear regions were also established. None of hyperstable sites are linked with lanosterol fixation.

Collected data has shown pronounced polymorphism in primary structure of lanosterol-14- α -demethylase, which may lead to selectivity of action of azoles on micromycetes. The investigation of this polymorphism in strains of fungi not only allows to predict their susceptibility to antimycotics, but also to carry out the reference species identification.

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ, СВЯЗАННОЙ С ИСКУССТВЕННОЙ ВЕНТИЛЯЦИЕЙ ЛЕГКИХ

Саватеева А.Г., Семиколонова Г.А., Гасретова Т.Д., Алутина Э.Л., Харсеева Г.Г.

Ростовский государственный медицинский университет МЗ РФ, Ростов-на-Дону, Россия

ETHIOLOGIC STRUCTURE AND RESISTANCE OF CAUSATIVE AGENT OF UPPER AIR WAY COMBINED WITH ARTIFICIAL LUNGS VENTILATION

Savateeva A.G., Semicolenova G.A., Gasretova T.D., Alutina E.L., Kharseeva G.G.

Rostov State Medical University of MH RF, Rostov-on-Don, Russia

Цель исследования – изучение этиологической структуры и резистентности к антибактериальным препаратам возбудителей инфекции дыхательных путей, связанной с искусственной вентиляцией легких.

Материалы и методы. В 2014 г. провели микробиологические исследования мокроты, взятой у больных с вентилятор-ассоциированной инфекцией дыхательных путей. Выделено 103 этиологически значимых штамма. Идентификацию и дифференциацию изолятов осуществляли с помощью микротест-системы (НПО «Диагностические системы», НПО «АЛЛЕРГЕН» АУХАКОЛО-2), чувствительность и резистентность к антибактериальным препаратам устанавливали согласно МУК 4.2.1890-04. Для определения чувствительности *Candida* к антимикотическим препаратам использовали диско-диффузионный метод (Гексадиски Antimycos 01) и систему «Fungitest».

Результаты. В этиологической структуре инфекций дыхательных путей, связанной с искусственной вентиляцией легких, выявили: энтерококки (19 штаммов *Enterococcus faecalis*, 3 – *E. faecium*), *Candida* (*C. albicans* – 13, *C. tropicalis* – 2, *Candida* spp. – 2), стафилококки (*Staphylococcus aureus* – 8, *S. epidermidis* – 8), клебсиеллы (*Klebsiella pneumoniae* – 11, *K. terrigena* – 1), *Pseudomonas aeruginosa* – 10, *Acinetobacter baumannii* – 7 и *Stenotrophomonas maltophilia* – 4.

При этом обнаружили высокие показатели множественной резистентности к антибактериальным препаратам у многих изолятов. У всех штаммов клебсиелл наблюдали чувствительность только к меропенему и амикацину, у *A. baumannii* – к полимиксину и цефоперазону / сульбактаму. Из 10 изолятов *P. aeruginosa* 7 – обладали множественной резистентностью, у них также отмечали чувствительность только к полимиксину и цефоперазону / сульбактаму; выделенные культуры *S. maltophilia* были чувствительны к норфлоксацину, цефоперазону / сульбактаму и тикарциллину / клавуланату. Все штаммы энтерококков были чувствительны к ципрофлоксацину и ванкомицину. Среди изолятов стафилококка выявили 1 штамм MRSA. Из 17 выделенных культур р. *Candida* 3 штамма были устойчивы к флуконазолу.

Заключение. Представленные результаты могут быть обоснованием выбора препаратов для проведения эмпирической антимикробной терапии больным с вентилятор-ассоциированной инфекцией дыхательных путей.

CANDIDA SPP. В РАЗВИТИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕНЕРАЛИЗОВАННОГО ПАРОДОНТИТА У ЖИТЕЛЕЙ УРБАНИЗИРОВАННОГО СЕВЕРА

Сайгушева Л.А., Дудко Е.Ф., Евтушенко Е.А., Куяров А.А.

Сургутский государственный университет, Сургут, Россия

CANDIDA SPP. IN THE DEVELOPMENT OF CHRONIC GENERALIZED PERIODONTITIS AMONG RESIDENTS OF THE URBANIZED NORTH

Saygusheva L.A., Dudko E.F., Yevtushenko E.A., Kuyarov A.A.

Surgut State University, Surgut, Russia

Наличие *Candida* spp. в составе биоценоза полости рта определяет затяжной характер течения заболевания и торпидность к проводимой традиционной терапии, что особенно актуально в условиях снижения резистентности организма при длительном проживании в условиях Севера.

Цель исследования – определение в различных биотопах полости рта *Candida* spp. при хроническом генерализованном пародонтите у жителей урбанизированного Севера.

Материалы и методы. Провели клинико-лабораторное исследование в группе больных с диагнозом «хронический генерализованный пародонтит средней степени тяжести» (31 человек; группа 1) и в группе сравнения (32 человека; группа 2), которую составили лица, обратившиеся в стоматологическую поликлинику по поводу проведения профгигиены полости рта и не предъявляющие жалоб.

Материал для бактериологического исследования брали путем мазка со слизистой оболочки десны, щеки и зева. Идентификацию микроорганизмов проводили методом времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI TOF MS) с помощью анализатора микроорганизмов BioMerieux VITEK MS MALDI-TOF.

Результаты. Индикацию *Candida* spp. наблюдали в группе 1 в 53,4% случаев, в группе 2 – в 34,4%. У *Candida*-носителей в группе 1 наиболее часто была контаминирована слизистая оболочка зева (76,6%), при этом содержание грибов 10^4 и более отмечали в 57,4% случаев. Реже *Candida* spp. выделяли со слизистой оболочки десны и щеки (по 66,6%) при их содержании 10^4 и более в 32,0% и 42,0% случаев соответственно. В группе 2 повышенное содержание грибов выявляли в диапазоне от 18,1 до 36,4% случаев.

Заключение. В связи с выявлением высокой степени контаминации *Candida* spp. при хроническом генерализованном пародонтите у жителей урбанизированного Севера, необходимо проведение бактериологических исследований микробиоты биотопов полости рта для оказания персонализированной помощи в проведении профилактических и лечебных мероприятий.

КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТУБЕРКУЛЕЗА У БОЛЬНЫХ С МНОЖЕСТВЕННЫМИ МУТАЦИЯМИ В ГЕНАХ katG, inhA, ahpC, rpoB, КОДИРУЮЩИМИ ЛЕКАРСТВЕННУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ К ИЗОНИАЗИДУ И РИФАМПИЦИНУ

Салина Т.Ю., Морозова Т.И., Докторов А.Н., Данилов А.Н.

Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского МЗ России, Саратов, Россия

CLINICAL PECULIARITIES OF TUBERCULOSIS IN PATIENTS WITH MULTIPLE MUTATIONS IN GENES katG, inhA, ahpC, rpoB, ENCODING DRUG RESISTANCE TO ISONIAZID AND RIFAMPICIN

Salina T.Yu., Morozova T.I., Doktorova N.P., Danilov A.N.

Saratov Medical University MH of Russia, Saratov, Russia

Цель – выявить клинические особенности течения туберкулеза у пациентов с множественными мутациями в генах *katG*, *inhA*, *ahpC*, *rpoB*, кодирующими лекарственную устойчивость (ЛУ) к изониазиду (И) и рифампицину (Р).

Материалы и методы. Методом биологических микрочипов (ООО «Биочип-ИМБ», Москва) обследовано 402 пациента с активным, впервые выявленным туберкулезом легких в возрасте от 20 до 64 лет, среди которых выделена группа больных (n=19), у которых отмечали множественные мутации в генах *katG*, *inhA*, *ahpC*, *rpoB* (от

3 до 9). Провели ретроспективный анализ особенностей клинической картины этих 19 пациентов.

Результаты. У пациентов с множественными мутациями в генах наиболее часто наблюдали сочетанные мутации в генах *katG*-*inhA* и множественные мутации в гене *groV*, преобладали тяжелые, деструктивные и осложненные формы туберкулеза легких. Остротекущие формы туберкулеза (диссеминированный, казеозная пневмония и генерализованный туберкулез) установили у 8 (42,1%) человек, распространенные формы инфильтративного туберкулеза легких с распадом и обширной зоной обсеменения – у 8 (42,1%). У всех 19 (100%) пациентов имели место осложнения основного процесса в виде дыхательной недостаточности, геморрагического синдрома и спонтанного пневмоторакса. У 18 (94,7%) человек туберкулез был отягощен хроническими воспалительными заболеваниями органов дыхания и мочеполовой системы с частыми обострениями. Контакт с туберкулезными больными имели 4 (21,1%). В процессе химиотерапии эпизоды повторного лечения противотуберкулезными препаратами (ПТП) со сменной режимов химиотерапии отмечали у 9 (47,4%), повторные курсы применения антибиотиков широкого спектра действия по поводу обострения сопутствующей патологии – у 10 (52,6%). Общий срок стационарного лечения более 1 года зарегистрировали у 9 (47,4%) больных, исход лечения был расценен как неэффективный – у 6 (31,6%).

Заключение. Обнаружение множественных мутаций в генах *katG*, *inhA*, *ahpC*, *groV* является неблагоприятным фактором, так как ассоциируется с тяжелыми и осложненными формами туберкулеза с наличием сопутствующих очагов хронической инфекции. Создается впечатление, что случаи повторного лечения ПТП и антибиотиками широкого спектра действия способствуют накоплению разного вида мутаций в генах *M. tuberculosis*, имеющих кумулятивный эффект.

ПОЛИРЕЗИСТЕНТНЫЕ ИЗОЛЯТЫ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* В РАЗВИТИИ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У РАНЕННЫХ И ПОСТРАДАВШИХ ЛИЦ

Светяш Д.А., Коскин В.С., Рудь А.А., Петров А.А., Борисенко Н.В., Суборова Т.Н.

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия

MULTYRESISTANCE ISOLATES OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* IN DEVELOPMENT OF INFECTIOUS COMPLICATIONS IN THE WOUNDED AND INJURED PERSONS

Svetyash D.A., Koskin V.S., Rud A.A., Petrov A.A., Borisenko N.V., Suborova T.N.

S.M. Kirov Military Medical Academy, Ministry of Defense of the RF, St. Petersburg, Russia

В настоящее время наибольшую тревогу в стационарах всего мира вызывает распространение энтеробактерий вида *Klebsiella pneumoniae*, что связано с приобретением ими устойчивости к антибиотикам, применяемым для лечения тяжелых инфекционных осложнений.

Цель – изучить распространенность полиантибиотикорезистентных штаммов *K. pneumoniae* среди возбудителей инфекционных осложнений пациентов специализированного хирургического стационара по лечению тяжелых ранений и травм в 2014 году.

Материалы и методы. Бактериологические исследования образцов клинического материала проводили в НИЦ ВМА имени С.М. Кирова классическими методами. Чувствительность к антибиотикам изучали диско-диффузионным методом.

Результаты. В период проведения исследования грамотрицательные бактерии (ГОб) преобладали в спектре возбудителей инфекционных осложнений. Выделяли представителей 7 родов семейства *Enterobacteriaceae*, но абсолютным лидером оказалась *K. pneumoniae*, доля которой достигла 66,4% от числа представителей этого семейства. Наиболее часто их выявляли из образцов мокроты (n=104; 43,5%) и мочи (n=70; 29,3%), отмечали также 16 случаев бактериемии, вызванной этим возбудителем. Более 60 % штаммов *K. pneumoniae* было получено от больных отделения реанимации и интенсивной терапии (n=148; 61,9%). Лишь 21,5% выделенных штаммов *K. pneumoniae* были чувствительны к амикацину, 12,6% – к

цефепиму, 33,9% – к цефоперазону/сульбактаму, 11,7% – к ципрофлоксацину, 9,2% – к пиперациллину/тазобактаму. У 32,2% клинических изолятов *K. pneumoniae* отмечали устойчивость к меропенему. При этом 26,9%(n=64), штаммов были одновременно устойчивы ко всем антибиотикам, кроме полимиксина. Установлено широкое распространение продуцентов бета-лактамаз расширенного спектра и у ряда штаммов – наличие карбапенемазы NDM-1 (New Delhi metallo- β -lactamase).

Вывод. Высокая частота выделения устойчивых штаммов *K. pneumoniae* определяет необходимость проведения молекулярно-генетических исследований с целью определения механизмов полиантибиотикорезистентности и своевременного проведения эффективных санитарно-профилактических (противоэпидемических) мероприятий в специализированном хирургическом стационаре по лечению раненых и пострадавших лиц.

The distribution of enterobacteria *Klebsiella pneumoniae* at the hospitals all over the world is a great problem nowadays, due to their high ability to get resistance to modern antibiotics, which are used to treat severe infectious complications.

The aim of our study was to explore prevalence of antibiotic multidrug-resistance isolates of *K. pneumoniae* among the causative agents of infectious complications in cases with severe wounds and trauma at Level 1 Trauma center in 2014.

Materials and methods. The bacteriological tests of clinical material were provided by standard methods at Research Science Center of the Military Medical Academy named after S.M. Kirov. An antibiotic susceptibility was studied by a disk diffusion method.

Results. Gram-negative bacteria (GNB) prevailed in the spectrum of causative agents of infectious complications. Representatives of 7 species of *Enterobacteriaceae* family were distinguished, but *K. pneumoniae* appeared to be an absolute leader, with rate attained 66,4% from the number of representatives of this family. Most often they were exposed from the standards of sputum (n=104; 43,5%) and urine (n=70; 29,3%), 16 cases of bacteremia were caused by this agent. More than 60 % isolates of *K. pneumoniae* were isolated from the patients of intensive care unit (n=148; 61,9%). Only 21,5% of distinguished strains of *K. pneumoniae* were susceptible to amikacin, 12,6% - to cefepime, 33,9% - to ceftazidime/sulbactam, 11,7% - to ciprofloxacin and 9,2% - to piperacillin/tazobactam. Also, at 32,2% of clinical isolates of *K. pneumoniae* was marked the resistance to meropenem. And 26,9% (n=64) isolates were simultaneously resistant to all antibiotics except polymyxin. We found out a wide distribution of beta-lactamases producers of the extended spectrum and that some amount of isolates has a presence of carbapenemase NDM - 1 (New Delhi metallo- β -lactamase).

Conclusion. High frequency of antibiotic-resistant strains of *K. pneumoniae* determines the necessity of realization of molecular-genetic researches with the purpose to find out the mechanisms of antibiotic multidrug-resistance and provide effective prophylactic (anti-epidemic) events in the Level 1 Trauma Center.

АНАЛИЗ МИКРОБИОЦЕНОЗА КОЖИ У ЛИЦ, СТРАДАЮЩИХ АКНЕ

Свиридова Е.В., Султанова И.Х.

Оренбургский государственный медицинский университет, Оренбург, Россия

ANALYSIS OF THE MICROFLORA OF THE SKIN IN PATIENTS SUFFERING FROM ACNE

Sviridova E.V., Sultanova I.H.

Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia

Acne vulgaris (AV) – хроническое полиморфное мультифакторное заболевание волосных фолликулов и сальных желез. В последнее десятилетие дерматологи и косметологи отмечают увеличение обращаемости пациентов с акне.

Цель исследования – изучить распространённость AV среди студентов ОрГМА, выявить наиболее частые причины её возникновения, определить видовой состав и биологические свойства микроорганизмов, выделенных у студентов-медиков с угревыми высыпаниями.

Материалы и методы. Среди студентов ОрГМА в возрасте 18-25 лет было проведено анкетирование 104 человек (23 мужчины и 81 женщина), по результатам которых отобрано 5 добровольцев (3 девушки и 2 мужчин) для дальнейшего микробиологического изуче-

ния кожного биотопа. Клинический материал (мазок с кожи лица в области акне) взят по общепринятым схемам. Материал засеивали на кровяной, желточно-солевой агар и среду Сабуро. Выделенные штаммы идентифицировали по тинкториальным и биохимическим свойствам, определяли наличие гемолитической (ГА), лецитовителазной (ЛА) и антилизосимной (АЛА) активностей, оценивали резистентность к наиболее часто используемым антибиотикам.

Результаты. Среди опрошенных 52% мужчин и 67% женщин отмечали у себя признаки AV, 58% и 91% – единичные проявления сыпи, 42% и 9% – крайне выраженное проявление. 50% мужчин и 18% женщин считали причиной появления сыпи изменение в рационе питания, 53% женщин связывали высыпания с фазами менструального цикла. 36% женщин и 8% у мужчин имели заболевания ЖКТ.

Из исследуемого материала выделили 37 штаммов микроорганизмов. Показатель микробной обсемененности составил от 10^3 до 10^{12} КОЕ/мл. Все обнаруженные штаммы были отнесены к роду *Staphylococcus*. В 80% биоценозов наблюдали *S. aureus*, *S. xylosum* и *S. warneri*. В 3 биоценозах (60%) выявляли *S. hominis*. АЛА обладали 100% изолятов, при этом уровень признака изменялся от 2,7 до 5,7 мкг/мл, ГА – 83,4% выделенных штаммов, ЛА – 69,5%. Установлено, что наибольшую устойчивость выделенные штаммы проявляли к ванкомицину и пенициллину (75% и 62% соответственно), наименьшую – к оксациллину и цефазолину (по 3,4%).

Заключение. Больше половины всех опрошенных выявляют у себя признаки AV. Из 5 пациентов только у одного микробиоценоз кожи характеризовался как нормоценоз (ПМО= 10^3 КОЕ/тампон, выделяли коагулазоотрицательные стафилококки, обладавшие низкими значениями АЛА и не проявлявшими ГА и ЛА). У остальных 4 обследованных лиц диагноз AV был подтвержден бактериологическим исследованием, эти лица нуждаются в терапии для элиминации золотистого стафилококка и снижения ПМО. Выявлена наибольшая чувствительность штаммов к оксациллину и цефазолину (по 96,6%), поэтому эти препараты могут быть использованы для проведения антибактериальной терапии.

КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МИКРОСПОРИИ

Селютина О.В.

Областной клинический кожно-венерологический диспансер, Воронеж, Россия

THE CLINICAL-EPIDEMIOLOGICAL PECULIARITIES OF MICROSPORIA

Selutina O.V.

Regional dermatovenerological dispensary, Voronezh, Russia

Цель – проанализировать клинико-эпидемиологические особенности микроспории.

Методы и материалы. Изучили 50 амбулаторных карт пациентов с диагнозом «микроспория», обратившихся на консультативный прием к дерматологу ВОККВД в 2014 г. Диагностика заболевания состояла из анализа анамнестических данных, оценки клинической картины, люминисцентного исследования под лампой Вуда (при вовлечении в патологический процесс придатков кожи отмечали характерное изумрудное свечение), обязательного микологического исследования (КОН-тест и посев на среду Сабуро).

Результаты. Женщин – 26, мужчин – 24. Возрастная структура: 1 год – 1 (2%): девочек – 0, мальчиков – 1; 2-3 года – 9 (18%): девочек – 5, мальчиков – 4; 4-6 лет – 19 (38%): девочек – 10, мальчиков – 9; 7-10 лет – 9 (18%): девочек – 2, мальчиков – 7; 11-15 лет – 5 (10%): девочек – 3, мальчиков – 2; 16-18 лет – 2 (4%): девочек – 2, мальчиков – 0; 19-25 лет – 5 (10%): женщин – 4, мужчин – 1. Распределение по диагнозам: микроспория гладкой кожи – 28 (56%), волосистой части головы – 15 (30%), волосистой части головы и гладкой кожи – 7 (14%). Поражение волосистой части головы отдельно или в сочетании с поражением гладкой кожи выявляли только в возрастной группе 1-10 лет, что составило 22 случая (девочек – 7, мальчиков – 16). Из 28 случаев поражения только гладкой кожи у 26 пациентов имело место поражение пушковых или щетинистых волос.

Выводы. Основная масса заболевших микроспорией была в возрастной группе от 2 до 15 лет – 84%. Взрослые пациенты составили 10%. В целом, по всем случаям микроспории соотношение женщин и мужчин составило 1:1. Случаи с поражением волосистой части головы отдельно или в сочетании с поражением гладкой кожи

отмечали только в возрастной группе 1-10 лет (44%), причем у мальчиков в 2 раза чаще. У 93% пациентов с диагнозом «микроспория гладкой кожи» были поражены пушковые или щетинистые волосы, что указывает на актуальность люминисцентной диагностики.

НЕКОТОРЫЕ ПРОБЛЕМНЫЕ ВОПРОСЫ ВСТРЕЧАЕМОСТИ МИКРОМИЦЕТОВ В ЗАМКНУТЫХ ЭКОСИСТЕМАХ

Сергеева Л.Е.

Российская национальная библиотека; Национальный государственный университет им. П.Ф. Лесгафта, Санкт-Петербург, Россия

SOME PROBLEMATIC QUESTIONS OF THE OCCURRENCE OF MICROMYCETES IN RESERVED ECOSYSTEMS

Sergeeva L. E.

National Library of Russia; National State University named after P.F. Lesgaft, St Petersburg, Russia

A particular component of reserved ecosystems is micromycetes, so their taxonomy, ecology, as well as dynamics of spread have attracted a great interest. It is not clear how many species may coexist in a single book or paper part and whether the different species differ in their mechanisms of substrate colonization.

Aim – the research was carried out to provide a better understanding of the diversity of the micromycetes in broad spectrum of the closed rooms in library and in outside.

Materials and methods. Our experiments were conducted since 2006 to 2008 within several departments of The National Library of Russia and derived from outside ecosystems. Every explored place notably differs from the others. During this research, we used modern methods for recording the total concentration of spores and species identification of isolated fungi as well as the physical parameters (temperature, humidity, light, fluctuations of air).

Results. Data on huge amount of species were collected both from the air and from the surface of the books. We have isolated more than 160 strains. Most of them were isolated from librarian depositories and reading rooms but some of them derived from outside ecosystems. The species composition was analyzed in detail. During growth in vitro the isolated strains showed different capabilities. Direct measurement in different fungal communities demonstrated that they are quantitatively and qualitatively diverse. We can divide two biotopes: communities in the air and paper communities with different trophic groups. Careless mycological analysis made it possible to study in detail the structure of micromycete community, to determine typical dominant (frequency more than 50%), typical common (frequency 30 to 50%), typical rare (frequency 10 to 30%) and causal (frequency, less than 10%) species. The overwhelming majority of the strains isolated from some studied points belong to widespread fungi. It was noted that librarian depositories have some typical species and we present these lists of isolated micromycetes. Nearly all these micromycetes are potentially dangerous as destroyers of paper and, furthermore, can induce well known allergic diseases.

Conclusion. The data obtained confirm the earlier suggestions that the pathways of some particular species are similar and that there exists a weaker influence of the outside microflora. Furthermore, the present paper will focus mainly on the different strategies of the spread the fungi in closed rooms and where there are the significant gaps in our knowledge.

ОСОБЕННОСТИ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЛАДОННО-ПОДОШВЕННЫХ ФОРМ ПСОРИАЗА В СОЧЕТАНИИ С УРОГЕНИТАЛЬНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ

Серебрякова И.С.

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

FEATURES OF CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTICS PALMAR-PLANTAR PSORIASIS IN COMBINATION WITH UROGENITAL INFECTIONS

Serebryakova I.S.

North-Western state medical university named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

В последнее время в России отмечают возрастание заболеваемости тяжелыми и торпидными формами псориаза, в том числе – ладонно-подошвенным псориазом. Особенности проявлений ладонно-подошвенных форм псориаза или их развитие на фоне прогрессирования и обострения процесса можно связать с урогенитальными инфекциями, являющимися очагом фокальной инфекции. При этом именно латентное, бессимптомное течение урогенитальных инфекций влияет на иммунопатогенез и аутоиммунные изменения при псориазе, которые, в свою очередь, определяют тяжесть течения псориаза.

Цель исследования – с использованием комплекса методов клинико-лабораторной диагностики уточнить иммунопатогенез ладонно-подошвенных форм псориаза и разработать алгоритм обследования и лечения пациентов.

Материалы и методы. Комплексное обследование прошли 100 пациентов в возрасте от 18 до 59 лет с ладонно-подошвенной формой псориаза. Кроме стандартного общеклинического обследования, всех больных обследовали на урогенитальные инфекции (бактериоскопический метод, ПЦР, иммуноферментный и культуральный методы), а также проводили оценку параметров клеточного и гуморального иммунитета. Для объективной оценки исходного состояния больных, а также эффективности лечения применяли дерматологический индекс шкалы симптомов (ДИШС) и дерматологический индекс качества жизни (ДИКЖ) – русифицированный вариант индекса A.I. Finlay (Dermatology Life Quality Index (DLQI) A.I. Finlay).

Результаты. При обследовании 100 пациентов с торпидно протекающими ладонно-подошвенными формами псориаза, выявили высокий процент урогенитальных инфекций, в структуре возбудителей которых наиболее часто отмечали хламидиоз. При иммунологическом исследовании больных с ладонно-подошвенными формами псориаза в сочетании с урогенитальными инфекциями обнаружили выраженные иммунологические изменения – гиперактивацию клеточного звена иммунитета, высокий уровень спонтанной продукции TNF- α . Обследованные лица с ладонно-подошвенной формой псориаза и сопутствующими урогенитальными инфекциями были разделены на две статистически сопоставимые группы и получали комплексное лечение, включающее также эрадикационную терапию урогенитальных инфекций. Пациентам основной группы назначали иммуномодулятор – дезоксирибонуклеат натрия. По данным клинического и иммунологического мониторинга после лечения, наблюдали эффективность комплексной патогенетической терапии у больных с ладонно-подошвенным псориазом, более выраженную у больных, получавших дезоксирибонуклеат натрия. ДИШС и ДИКЖ также подверглись значительной редукции в обеих группах пациентов, однако более выраженную положительную динамику отмечали в группе лиц, получавших иммуномодулятор.

Выводы. В связи с выявлением высокого процента урогенитальных инфекций у больных ладонно-подошвенными формами псориаза необходимо включение в алгоритм клинико-лабораторного обследования данной группы пациентов лабораторные тесты с целью исключения или подтверждения этих инфекций. Учитывая роль иммунологических нарушений в течении псориаза, пациентам с торпидным протекающим ладонно-подошвенным псориазом следует проводить иммунологический мониторинг до и после лечения для оценки его эффективности. Выявленная высокая терапевтическая эффективность раствора дезоксирибонуклеата натрия дает возможность рекомендовать включение данного иммуномодулятора в комплексную терапию ладонно-подошвенных форм псориаза и сопут-

ствующих урогенитальных инфекций.

Recently in Russia there is an increase in the incidence of severe forms of psoriasis, including palmar-plantar forms. Features of the manifestations palmar-plantar psoriasis and their development on the aggravation of the process can be associated with urogenital infections, which are the foci of focal infection. Latent asymptomatic urogenital infections affect immunopathogenic in psoriasis and determine the severity of psoriasis.

Purpose of research was to clarify the immunopathogenesis of palmar-plantar psoriasis and develop an algorithm of examination and treatment of patients with palmar-plantar psoriasis using complex techniques of clinical laboratory diagnostics.

Materials and methods. A comprehensive survey of 100 patient aged 18 to 59 years with palmar-plantar psoriasis. In addition to the standard clinical examination, all patients were examined on urogenital infections (bacterioscopic method, polymerase chain reaction – PCR, enzyme-linked immunosorbent assay and culture methods) and also evaluated the parameters of cellular and humoral immunity. For an objective baseline assessment of the patients, as well as the effectiveness of the treatment applied dermatological index scale of symptoms and dermatological index of dermatological index of life quality (the Russian version of the index dermatology life quality index (DLQI) A.I. Finlay).

Deliverables. In a study of 100 patients with difficult flowing palmar-plantar psoriasis, revealed a high percentage of urogenital infections, the pathogens most frequently mentioned chlamydial infections. At immunological study of patients with palmar-plantar psoriasis in combination with urogenital infections were found pronounced immunological changes: hyperactivation of cellular immunity, a high level of spontaneous production of TNF- α . Examined patients with palmar-plantar psoriasis and concomitant urogenital infections were divided into two statistically comparable groups and received combined treatment, including eradication therapy of urogenital infections. The main group of patients was added to immunomodulator therapy sodium desoxyribonucleate. According to clinical and immunological monitoring before and after treatment observed the efficiency of complex pathogenetic therapy in patients with palmar-plantar psoriasis, more pronounced in patients receiving sodium desoxyribonucleate. Dermatological index scale of symptoms and dermatological index of dermatological index life quality have also been significant reduction in both groups of patients, however, more pronounced positive dynamics were observed in the group of persons receiving immunomodulator.

Conclusions. In connection with the identification of a high percentage of urogenital infections in patients with palmar-plantar forms of psoriasis it is necessary to include in the algorithm of clinical and laboratory examination of this group of patients the laboratory tests to exclude or confirm these infections. Given the role of immunological disorders in psoriasis patients with torpid flowing palmar-plantar psoriasis it is necessary to conduct immunological monitoring before and after treatment to assess its effectiveness.

The high therapeutic effectiveness of the sodium desoxyribonucleate solution gives as the opportunity to recommend the inclusion of this immunomodulator in complex therapy of palmar-plantar psoriasis and related urogenital infections.

ОСОБЕННОСТИ ИДЕНТИФИКАЦИИ И ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕРВЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ *PSEUDOMONAS FULVA*, ВЫДЕЛЕННЫХ В РОССИИ

Сиволодский Е.П.¹, Бадиков В.Д.², Зуева Е.В.³, Кунилова Е.С.³, Богумильчик Е.А.³

¹Военно-медицинская академия имени С.М.Кирова; ²ЗАО Ситилаб; ³НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

FEATURES OF IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF THE FIRST CLINICAL STRAINS *PSEUDOMONAS FULVA* ISOLATED IN RUSSIA

Sivolodskii E.P.¹, Badikov V.D.², Zueva E.V.³, Kunilova E.S.³, Bogumilchik E.A.³

¹S.M. Kirov Military Medical Academy; ²Sitylab; ³St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia

Цель исследования – выявление клинических штаммов *Pseudo-*

monas fulva в России и определение достоверных методов их идентификации.

Материалы и методы. Объектами исследования были 8 штаммов *P. fulva* из коллекции культур псевдомонад неустановленной видовой принадлежности, выделенных в 1995-2005 гг., и 2 штамма *P. fulva*, выделенных в 2014 г. в лечебных учреждениях Санкт-Петербурга. Их принадлежность к *P. fulva* была установлена в ходе изучения методом MALDI-TOF масс-спектрометрии. В работе использовали MALDI-TOF масс-спектрометр Microflex с базой данных MALDI Biotyper (Bruker Daltonics Inc.) и Vitek MS с базой данных V2,0 (bioMérieux, France). Применяли также традиционные культуральные и биохимические тесты.

Результаты. С помощью MALDI-TOF масс-спектрометра Microflex идентифицировали с высоким уровнем достоверности (2,302-2,455) все исследуемые штаммы *P. fulva*. Однако прибор Vitek MS ошибочно идентифицировал те же штаммы как *P. putida*. Достоверная идентификация *P. fulva* также была достигнута традиционными методами исследований по комплексу признаков: чувствительность бактерий к ионам бария, продукция желтого пигмента колоний на ГРМ-агаре при 26 °С и коричневого пигмента вокруг колоний на ГРМ-агаре при 35 °С; наличие оксидазы, продукция флуоресцина на синтетической среде King BS при 26 °С, отсутствие утилизации L-лизина, L-лейцина; наличие аргининдигидролазы; отсутствие нитратредуктазы, гидролиза эскулина, роста при 41 °С.

Заключение. Выявлены наиболее ранние и первые в России клинические штаммы *P. fulva*, установлена достоверность их идентификации методом MALDI-TOF масс-спектрометрии прибором Microflex с базой данных MALDI Biotyper (Bruker Daltonics Inc.). Экспериментально обоснован комплекс тестов для достоверной идентификации *P. fulva* традиционными методами исследований.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ *PSEUDOMONAS FULVA*, ВЫДЕЛЕННЫХ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

Сиволодский Е.П.¹, Сидоренко С.В.², Бадиков В.Д.³, Горелова Г.В.¹, Богословская С.П.¹, Домакова Т.В.³, Калиногорская О.С.²

¹Военно-медицинская академия имени С.М.Кирова; ²НИИ детских инфекций; ³ЗАО Ситилаб, Санкт-Петербург, Россия

THE SENSITIVITY TO ANTIBIOTICS OF CLINICAL STRAINS *PSEUDOMONAS FULVA* ISOLATED IN ST. PETERSBURG

Sivolodskii E.P.¹, Sidorenko S.V.², Badikov V.D.³, Gorelova G.V.¹, Bogoslovskaja S.P.¹, Domakova T.V.³, Kalinogorskaja O.S.²

¹S.M. Kirov Military Medical Academy; ²Institute of Children's Infections; ³Sitylab, St. Petersburg, Russia

Цель исследования – характеристика видовой чувствительности к антибиотикам и приобретенной антибиотикорезистентности клинических штаммов *Pseudomonas fulva*.

Материалы и методы. Изучали 10 штаммов *P. fulva*: 8 – из коллекции псевдомонад, выделенных в 1995-2005 годах, и 2 штамма, изолированных в 2014 г. в лечебных учреждениях Санкт-Петербурга. Штаммы были выделены в этиологически значимых концентрациях из мочи беременных женщин и урологических больных, околоплодных вод. Чувствительность бактерий к 30 антимикробным препаратам исследовали микробиологическим анализатором Vitek 2 (bioMérieux). К некоторым антибиотикам определяли чувствительность диско-диффузионным методом и серийными разведениями антибиотика в бульоне.

Результаты. Все клинические штаммы *P. fulva* имели природную устойчивость к ампициллину, ингибиторозащищенным пенициллинам, цефалоспорином I, II поколений, рифампицину, макролидам, нитрофурантоину. Все штаммы сохранили чувствительность к колистину, цефепиму, карбапенемам, азлоциллину, азтреонаму (кроме одного), аминогликозидам, ципрофлоксацину, тетрациклину, тайгедциклину. Приобрели устойчивость к триметоприм/сульфаметоксазолу 9 штаммов, к хлорамфениколу – 5. Два штамма приобрели устойчивость к цефалоспорином III поколения цефотаксиму, цефтриаксону, цефоперазон/сульбактаму, однако сохранили чувствительность к цефтазидиму и пиперацillin/тазобактаму, что характерно для бета-лактамазы расширенного спектра действия типа CTX-M.

Заключение. Определен профиль видовой чувствительности *P. fulva* к антибиотикам. Выявлены штаммы с приобретенной устойчивостью, что подтверждает длительную циркуляцию *P. fulva* в лечебных учреждениях и их медицинскую значимость.

ВЛИЯНИЕ ТЕПЛООВОГО СТРЕССА НА АНТИЛИЗОЦИМНУЮ АКТИВНОСТЬ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* И *KLEBSIELLA PNEUMONIA*

Сидорова О.И., Иванова Е.В., Перунова Н.Б.

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

INFLUENCE OF THE HEAT SHOCK ON ANTILYSOZYME ACTIVITY OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AND *KLEBSIELLA PNEUMONIA*

Sidorova O.I., Ivanova E.V., Perunova N.B.

Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UD of RAS, Orenburg, Russia

Влияние неблагоприятных факторов на бактерии приводит к состоянию стресса бактериальной клетки, которое характеризуется комплексом компенсаторно-приспособительных процессов, развивающихся в ответ на воздействие (Ткаченко А.Г., 2012; Эль-Регистан Г.И., 2005). Изучение влияния стрессоров на биологические свойства микроорганизмов, в том числе – на персистентный потенциал (антилизоцимная активность), которые отвечают за выживание и адаптацию микробной клетки/популяции, является актуальной проблемой микробиологии (Бухарин О.В., 2005; Schmidt, 2000).

Цель работы – изучение влияния температурного воздействия на ростовые свойства и антилизоцимную активность *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella pneumoniae*.

Материалы и методы. Использовали клинические штаммы *S. aureus* 12, *S. aureus* 10, *K. pneumoniae* 263, изолированные из кишечника условно здоровых пациентов, а также эталонный штамм *K. pneumoniae* № 278 (ГИСК им. Л.А. Тарасевича). Температурное воздействие изучали по методике Степаненко И.Ю. (2005), антилизоцимную активность (АЛА) – фотометрическим способом (Бухарин О.В. с соавт. 1999). Жизнеспособность оценивали высевом микроорганизмов на плотные питательные среды по методу Gould с определением КОЕ.

Результаты. При оценке жизнеспособности бактерий выявили, что при воздействии исследуемых температурных режимов (45 °С, 55 °С, 65 °С, время экспозиции – 10 минут) КОЕ у *S. aureus* снижались на 93±9,7%, а у *K. pneumoniae* – на 89±6,8%, что являлось показателем перехода бактериальных клеток в состояние стресса. При этом, несмотря на снижение численности микроорганизмов, АЛА *K. pneumoniae* оставалась на прежнем уровне и составляла 1,8±0,2 мкг/мл*ОП, а у исследуемых штаммов стафилококков, не проявлявших АЛА в оптимальных условиях, появлялась способность инактивировать лизоцим в пределах 1,2±0,2 мкг/мл*ОП.

Выводы. Установили, что антилизоцимная активность может быть использована в качестве модели для изучения стрессового ответа микроорганизмов. Полученные в настоящей работе данные дают возможность предположить, что воздействие теплового стресса может способствовать отбору персистентных штаммов микроорганизмов.

The impact of adverse factors on bacteria leads to stress of the bacterial cell, which is characterized by a complex of compensatory-adaptive processes developing in response to exposure (Tkachenko A.G., 2012; El-Registan G.I., 2005). Studying of the effect of stressors on the microorganisms biological properties, including persistent potential (antilysozyme activity), which are responsible for the survival and adaptation of microbial cells / population is the actual problem of microbiology (Bukharin O.V., 2005; Schmidt, 2000).

Purpose was to study the influence of temperature effects on growth properties and antilysozyme activity of *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae*.

Materials and methods. We used clinical strains of *S. aureus* 12, *S. aureus* 10, *K. pneumoniae* 263, isolated from the intestine of healthy patients, as well as a reference strain of *K. pneumoniae* № 278 (GISCO them. Tarasevich L.A.). The temperature effect was studied by the method of Stepanenko I.Y. (2005), antilysozyme activity (ALA) - by photometric

method (Bukharin O.V. et al. 1999). Viability was assessed by seeding of microorganisms on solid nutrient media by the method of Gould with the determination of CFU.

Results. In assessing the viability of the bacteria revealed that under the influence of the studied temperature regimes (45 °C, 55 °C, 65 °C, the exposure time - 10 minutes) CFU of *S. aureus* decreased by 93±9,7%, of *K. pneumonia* – by 89±6,8%, which was the indicator of a transition of bacterial cells in a state of stress. Thus, despite the decline of the microorganisms number, ALA of *K. pneumonia* remained at the same level and amounted to 1,8±0,2 ug/ml*OD, and in the studied strains of staphylococci that are not captured ALA in optimal conditions, appeared the ability to inactivate lysozyme in the range of 1,2±0,2 ug / ml * OD.

Conclusions. It was found that the antilysozyme activity can be used as a model to study the stress response of microorganisms. Obtained in the present study data suggest that exposure to heat stress may contribute to the persistent selection of strains of microorganisms.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ НОВЫХ ИННОВАЦИОННЫХ НАНОКАПСУЛИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ ФЛУКОНАЗОЛА В ОТНОШЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГРИБКОВЫХ ИНФЕКЦИЙ ЧЕЛОВЕКА

Смирнова И.Э.¹, Пичхадзе Г.М.², Треножникова Л.П.¹, Галимбаева Р.Ш.¹

¹Институт микробиологии и вирусологии КН МОН РК; ²Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова МЗ РК, Алматы, Казахстан

EFFECTIVENESS OF THE NEW INNOVATIVE NANOCAPSULATED MEDICINAL FORMS OF FLUCONAZOLE AGAINST PATHOGENS OF HUMAN FUNGAL INFECTIONS

Smirnova I.E.¹, Pichkhadze G.M.², Trenochnikova L.P.¹, Galimbaeva R.Sh.¹

¹Institute of Microbiology and Virology, Department of science, Ministry of Education and science; ²Kazakh National Medical University of Asfendiyarov, Ministry of Health, Almaty, Kazakhstan

Цель – изучение эффективности образцов новых нанокapsулированных лекарственных форм флуконазола с контролируемым высвобождением и пролонгированным действием в отношении возбудителей грибковых инфекций человека в опытах *in vivo* на модели дерматомикоза морских свинок.

Методы. Исследования проводили на морских свинках (самцы с массой тела, в среднем, 290,0-300,0 г). Животных распределяли по группам случайным образом. Эксперименты на животных включали 5 групп (по 5 животных в каждой группе). В качестве дерматомицета применяли клинический штамм патогенного гриба, вызывающий трихофитию человека – *Trichophyton rubrum* 1733. В исследованиях использовали три новые нанокapsулированных лекарственных формы флуконазола (Ф-2, Ф-3, Ф-5). Контролем для опытных образцов флуконазола служила группа – модель дерматомикоза + оригинальный препарат «Дифлюкан» (Ф-1) и группа – модель дерматомикоза, не получавшие антифунгальных средств (контроль 1). Опытные группы с моделью дерматомикоза ежедневно перорально получали лекарственные формы флуконазола или «Дифлюкана» из расчета 5 мг/кг/сут. Критерием эффективности служили различия в сроках излечения опытных и контрольной групп животных. Исследования антифунгальной активности лекарственных форм флуконазола в отношении возбудителей грибковых инфекций человека проводили в соответствии с «Методическими указаниями по изучению противогрибковой активности фармакологических веществ» (2005, 2012).

Результаты. Полученные лекарственные формы флуконазола обладали активностью в отношении возбудителей грибковых инфекций человека. У всех опытных животных с моделью дерматомикоза, получавших образцы новых лекарственных форм флуконазола, сроки излечения от грибковых инфекций, по сравнению с контролем, протекали быстрее, однако существенно не отличались от сроков излечения животных, получавших «Дифлюкан». Исключение составлял образец флуконазола Ф-5, при использовании которого сроки излечения животных были наиболее короткими и составляли 37,2 сут., в то время как в контроле без лечения – 44,4 сут., а в группе получавших «Дифлюкан» животных – 38,6 сут.

Выводы. 1. У всех опытных животных с моделью дерматомикоза, получавших новые лекарственные формы флуконазола, процесс освобождения от грибов (сроки излечения) по сравнению с контролем (контроль 1) протекал быстрее. Причем у морских свинок, получавших образец флуконазола Ф-5, этот показатель был более выраженным.

2. Сроки излечения животных от грибковых инфекций, получавших образцы новых лекарственных форм флуконазола, существенно не отличались от сроков излечения животных, получавших лечебный препарат «Дифлюкан».

Aim – studying the effectiveness of samples of new nanocapsulated medicinal forms of Fluconazole with controlled release and prolonged action relative to pathogens of human fungal infections in experiments *in vivo* on models of guinea pigs dermatomycosis.

Methods. Investigations were done on guinea pigs (males with body masses, in average 290,0-300,0 g). Animals were allocated in groups randomly. Experiments on animals included 5 groups (5 animals in each group). Clinical strain of pathogenic fungus, causing trichophytosis of human – *Trichophyton rubrum* 1733 was used as infectious agent. Three new nanocapsulated medicinal forms of fluconazole (F-2, F-3, F-5) were studied. As a control for experimental samples of fluconazole was the group: model of dermatomycosis + original preparation “Diflucan” (F-1) and group: model of dermatomycosis, which didn't accept antifungals (control 1). Experimental groups with models of dermatomycosis received per os medical forms of fluconazole every day or “Diflucan” at a dosage 5mg/kg/day. Criteria of effectiveness were differences in time of cure of experimental and control groups of animals. Investigations of antifungal activity of medical forms of Fluconazole relatively to pathogens of fungal infections of humans were made according to “Methodical instructions in studying of antifungal activity of pharmacological substances” (2005, 2012).

Results. New medical forms of fluconazole were active against *T. rubrum* *in vivo* on experimental model. Each experimental animal with dermatomycosis, which was treated by new medical forms of fluconazole, had time of cure from fungal infection shorter than control, however didn't significantly differ from time of cure of animals, which received “Diflucan”. Exception was the sample of fluconazole F-5, in using of which time of animal's cure was shorter and were 37,2 days, while as in control without treatment – 44,4 days, but in group of animals which received “Diflucan” – 38,6 days.

Conclusions. 1. Each experimental animal with model of dermatomycosis, which received new medical forms of fluconazole had the process of releasing from fungi (time of cure) faster than with control (control 1). In guinea pigs, which received sample of fluconazole F-5 this kind of index was more expressed.

2. Time of cure of experimental animals with dermatomycosis caused by *T. rubrum*, which received samples of new medical forms of fluconazole didn't significantly differ from time of cure of animals, which received “Diflucan”.

СТРУКТУРА ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ И ГЕНОТИПЫ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗНЫМ СПОНДИЛИТОМ И ТУБЕРКУЛЕЗОМ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

Соловьева Н.С.¹, Маничева О.А.¹, Вязовая А.А.², Журавлев В.Ю.¹, Вишневецкий Б.И.¹

¹ Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии МЗ РФ, ² НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

THE STRUCTURE OF DRUG RESISTANCE AND GENOTYPES OF CLINICAL ISOLATES OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS, ISOLATED FROM PATIENTS WITH TUBERCULOUS SPONDYLITIS AND TUBERCULOSIS OF THE RESPIRATORY SYSTEM

Solovyeva N.S.¹, Mancheva O.A.¹, Vjazovaja A.A.², V. Zhuravlev V.Yu.¹, Vishnevskiy B. I.¹

¹ St.Petersburg Scientific Research Institute of Phthisiopulmonology MH of Russia; ² Pasteur Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russia

Взаимодействие возбудителя и организма хозяина определяют

течение туберкулезной инфекции и исход заболевания. Сравнение свойств возбудителей заболевания, выделенных из очагов различной локализации, представляет интерес для изучения патогенеза туберкулеза. Вместе с тем, данные о структуре и спектре лекарственной чувствительности штаммов *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ), их принадлежности к генетическому семейству, широко представленные в научной литературе, относятся к клиническим изолятам, выделенным у больных туберкулезом органов дыхания (ТОД). Информация о свойствах возбудителя при туберкулезном спондилите (ТС) практически отсутствует.

Цель работы – дать сравнительную оценку фенотипических и генотипических свойств МБТ, выделенных от больных ТС и ТОД.

Материалы и методы. Исследовали 107 штаммов МБТ, выделенных от больных ТС (79,5% впервые выявленных) и 106 (91,5% впервые выявленных) – от больных ТОД, находившихся на лечении в клиниках СПб НИИФ в 2007-2011 гг.

Бактериологические исследования проводили в соответствии с Приказом №109. Мутации в генах *groB*; *katG*; *inhA*; *ahpC-oxuR*, ассоциированные с резистентностью к изониазиду и рифампицину, выявляли с помощью биологических микрочипов «ТБ-БИОЧИП» ИМБ РАН. Генотипирование штаммов МБТ осуществляли методом сплюгитипирования (Kamerbreek et al., 1997). Статистическую обработку выполняли использованием пакета программ, EpiCalc v.1.02, вычисляли критерий χ^2 .

Результаты. В структуре лекарственной устойчивости клинических изолятов, выделенных от больных ТС, преобладали штаммы с множественной/широкой лекарственной устойчивостью – 63,5%, что значительно больше аналогичного показателя при ТОД – 46,2% ($\chi^2 = 6,46$, $p = 0,011$). Наиболее часто встречающееся сочетание мутаций *groB Ser531* → *Leu* и *katG Ser315* → *Thr* обнаружили у 62,7% изолятов МБТ, выделенных от больных ТС, и в 88,8% – при ТОД ($\chi^2 = 5,127$, $p = 0,024$).

Среди генотипов клинических изолятов, выделенных от больных ТС, доля принадлежавших к семейству SIT1 (Beijing) была значительно выше, чем при ТОД – 74,8% и 55,7% соответственно ($\chi^2 = 7,752$, $p = 0,0054$), различаются по принадлежности к семействам LAM и H3(Ural) – соответственно 11,1% и 40,4% ($\chi^2 = 6,882$, $p = 0,009$), 25,9% и 6,4% ($\chi^2 = 4,057$, $p = 0,044$).

Характеристика штаммов	Распределение МБТ штаммов с генотипом SIT1 (Beijing) выделенных от больных (абс. и в %)			
	SIT1 (Beijing)		другие	
Сполиготип	Больные с туберкулезным спондилитом, n=107	Больные с туберкулезом органов дыхания, n=106	Больные с туберкулезным спондилитом, n=107	Больные с туберкулезом органов дыхания, n=106
	80* (74,8%)	59* (55,7%)	27 (25,2%)	47 (44,3%)
Чувствительные, моно-, полирезистентные	18 (22,5%)	18 (30,5%)	21 (75,0%)	39 (83,0%)
МЛУ/ШЛУ	62 (77,5%)	41 (69,5%)	6 (22,2%)	8 (17,0%)

Примечание: * $\chi^2 = 7,752$, $p = 0,0054$

Обсуждение и выводы. Среди изолятов МБТ, выделенных от больных туберкулезом, преобладали штаммы генетического семейства Beijing (139 из 213 – 65,2%). При ТС частота выявления этого семейства значительно выше, чем при ТОД (74,8% против 55,7%). Остальные штаммы принадлежали к генетическим семействам: T, H, H3(Ural), LAM, причем у штаммов, выделенных при ТОД, преобладали LAM, при ТС – T. Частота выделения штаммов LAM при ТОД значительно выше, чем при ТС, а H3(Ural) – ниже. Штаммы МБТ с МЛУ/ШЛУ достоверно чаще обнаруживали среди представителей семейства Beijing, чем среди других семейств, при обеих локализациях инфекции. Доля штаммов МБТ с МЛУ/ШЛУ в структуре лекарственной чувствительности в случае ТС больше, чем при ТОД (63,5% против 46,2%). Спектр мутаций, ассоциированных с МЛУ, при ТС более разнообразен. Сочетание мутаций *groB Ser531* → *Leu* и *katG Ser315* → *Thr* наблюдали в случае ТОД в 1,4 раза чаще, чем при ТС. Таким образом, популяции штаммов МБТ, выделенных от больных ТС и ТОД, не имеют фенотипических отличий, но значительно различаются по генотипическим характеристикам.

«ПЛАВУЧИЙ РЫНОК» ГЕНОВ

Соломенный А.П.

Институт экологии и генетики микроорганизмов уральского отделения РАН, Пермь, Россия

«FLOATING MARKET» OF THE GENES

Solomenniy A.P.

Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the RAS, Perm, Russia

В последние годы обнаружили новые генетические элементы, которые характеризуют эпидемические штаммы условно-патогенных микроорганизмов.

Цель работы – исследовать возможность горизонтального переноса генетического материала посредством интегров и инсерционных последовательностей.

Методы исследования: полимеразная цепная реакция, определение первичной нуклеотидной структуры бактериальной ДНК посредством автоматического секвенирования, биоинформационный анализ результирующих последовательностей с привлечением баз данных GenBank, Integrall и ISFinder.

Результаты. В геноме экстремально-устойчивого штамма *Acinetobacter baumannii* SPB82 (Санкт-Петербург, эпидемическая клональная линия I, сиквенс-тип ST231) показан интегрон 1-го класса, принадлежащий к новому семейству композитных интегров, где дистальная (в направлении 5'-3') часть с детерминантами множественной лекарственной устойчивости эволюционировала в оперонс утратой интегративной функции. Перенос данного генетического элемента происходит, по-видимому, self-transferable плазмидами. В геноме карбапенеморезистентного штамма *A. baumannii* Perm 60 (Пермь, эпидемическая клональная линия II) показано присутствие новой генетической конструкции, которая фланкирована инсерционными последовательностями ISAb16 и ISAb3 (IS1). Обнаруженные внутри нее нуклеотидные последовательности гомологичны известным у возбудителя пастереллеза (или геморрагической септицемии) *Pasteurella multocida* subsp. *multocida* и в эукариотическом геноме *Dendroctonus ponderosae* - жука-вредителя молодых насаждений хвойных растений.

Заключение. Принципиальная возможность обмена генами между филогенетически отдаленными организмами выглядит вполне реальной. Ранее фрагменты генов рибосомального спейсера *A. baumannii* находили в человеческом раковом геноме. Исследование поддержано Программой фундаментальных исследований УрО РАН № 4 «Молекулярная и клеточная биология» (проект № 01201256858).

Recently investigators have studied some genetic elements that characterize the epidemic strains of putative pathogenic microorganisms.

Aim and scope of this work – to explore the opportunity of horizontal transfer of genetic matter by means of integrons and insertion sequences.

Methods. The amplification reaction (PCR) and DNA automatic sequencing have been carried out and sequence-based ORF identification was performed using NCBI database GenBank and currently available Integrall and ISFinder bioinformatics tools.

Results. In the genome of an extremely drug-resistant strain of *Acinetobacter baumannii* SPB 82 (St. Petersburg emerging epidemic clonal line I and sequence-type ST231) was amplified class 1 integron, which belongs to a new family of composite integrons where the distal part (in the direction 5' to 3') of resistant determinants has evolved into operons with loss of integrative function. Transfer of this genetic element occurs, presumably, by means of self-transferable plasmids. The presence of novel genetic structure, which is flanked by insertion sequences ISAb16 and ISAb3 (IS1) was found in the genome of carbapenem-resistant *A. baumannii* 60 strains (Perm, epidemic clonal line II). Inner ORFs are homologous to known for *Pasteurella multocida* subsp. *multocida* (agent of haemorrhagic septicemia) genome and eukaryotic genome of *Dendroctonus ponderosae*, the mountain beetle that has devastated boreal pine forests.

Conclusion. The theoretical possibility of a horizontal gene transfer between phylogenetically distant organisms seems real. In practice, gene fragments of ribosomal spacer of *A. baumannii* earlier found in the human tumor-associated genes. This study was funded by the Molecular and Cell Biology program of Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, project no. 01201256858.

ПРИМЕНЕНИЕ ПРОБИОТИКОВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ БАКТЕРИАЛЬНОГО ВАГИНОЗА У БЕРЕМЕННЫХ

Солонина Н.Л.

Институт микробиологии и иммунологии им. И. И. Мечникова; Национальной академии медицинских наук Украины, Харьков, Украина

THE USE OF PROBIOTICS IN THE TREATMENT OF BACTERIAL VAGINOSIS IN PREGNANCY

SOLONINA N.L.

Institute of Microbiology and Immunology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Charkov, Ukraine

Во время беременности под влиянием гормонов создаются благоприятные условия для жизнедеятельности разнообразных микроорганизмов с различной степенью агрессивности, персистенции и патогенности. В последние годы одним из способов лечения дисбиозов вагинальной экониши является применение пробиотиков.

Цель – оценить клиническую эффективность мультипробиотиков группы Симбитер при лечении бактериального вагиноза у беременных.

Материалы и методы. Обследовано 315 беременных женщин в возрасте от 22 до 38 лет с диагнозом «бактериальный вагиноз». Выделено и идентифицировано 375 штаммов условно-патогенных микроорганизмов, где *Escherichia coli* составляла 15,7%, других представителей энтеробактерий – 13,6%, *Staphylococcus epidermidis* – 10,4%, *Staphylococcus aureus* – 13,3%, анаэробных микроорганизмов – 36,2%, грибов рода *Candida* – 49,0%. Кроме того, у 46,9% женщин регистрировали трихомонады, у 28,2% – половой герпес. Оценку клинической эффективности пробиотических препаратов группы Симбитер в комплексном лечении бактериальных вагинозов проводили по результатам повторного бактериологического исследования.

Результаты. Использование пробиотических препаратов группы Симбитер в комплексном лечении бактериальных вагинозов у беременных способствовало нормализации микробаланса влагалищной экониши, при этом было до минимума сведено применение антибактериальных и гормональных препаратов, способных нарушать физиологические механизмы взаимоотношений макроорганизма с его аутомикробиотой. У 85,0% женщин после местного применения пробиотических препаратов нормализовалась микробиота влагалища – кишечные микроорганизмы и стафилококки не регистрировали, у 8,0% выделяли единичные колонии *Candida* spp.

Выводы. Исследованием подтверждена высокая эффективность и надежность данного препарата при лечении бактериальных вагинозов у беременных.

During pregnancy favorable conditions for activity of different microorganisms with the different level of aggressiveness, persistence and pathogenicity arise due to the hormonal influence. Recently one of the approaches in treatment of dysbiosis of vaginal ecological niche is application of probiotics.

The aim of the study – to evaluate the clinical efficacy of multiprobitics of Simbeeter group in treatment of bacterial vaginosis in pregnant women.

Materials and methods. 315 pregnant women aged from 22 to 38 years with diagnosis «bacterial vaginosis» were studied. 375 strains of opportunistic microorganisms were isolated, among those *Escherichia coli* constituted 15,7% of all the strains, other enterobacterial species – 13,6%, *Staphylococcus epidermidis* – 10,4%, *Staphylococcus aureus* – 13,3%, anaerobic microorganisms – 36,2%, *Candida* spp. fungi – 49,0%. Besides in 46,9% of the women trichomonades were registered and in 28,2% – genital herpes. The evaluation of clinical efficacy of probiotic agents of Simbeeter group in the complex treatment of bacterial vaginosis was carried out after the second bacteriological analysis.

Results. The application of probiotic agents of Simbeeter group in the complex treatment of bacterial vaginosis in pregnant women has facilitated the recovery of vaginal ecological niche microbalance and the application of antibacterial and hormonal agents that can disrupt the physiological mechanisms of microorganism and its automicrobiota relationship, was rendered to a minimum. In 85,0% women after the local application of probiotic agents the normalization of vaginal microbiota was observed – the enteric microorganisms and staphylococci were not registered, in 8,0% of women single colonies of *Candida* spp. were isolated.

Conclusion. The research has confirmed the high efficacy and reliability of the studied agent in treatment of bacterial vaginosis in

pregnant women.

ПИРРОЛОХИНОЛИНЫ: ПЕРСПЕКТИВНЫЙ КЛАСС СОЕДИНЕНИЙ С ПРОТИВОМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Степаненко И.С., Коткин А.И., Ямашкин С.А.

Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева, Мордовский государственный педагогический университет им. Е. Е. Евсевьева, Саранск, Россия

PYRROLOQUINOLINE: A PROMISING CLASS OF COMPOUNDS WITH ANTIMICROBIAL ACTIVITY.

Stepanenko I.S., Kotkin A.I., Ymashkin S.A.

Ogarev Mordovia State University, Mordovia State Pedagogical University, Saransk, Russia

Цель работы – исследование противомикробной активности пирролохинолинов.

Материалы и методы. Определение чувствительности микроорганизмов к исследуемым препаратам проводили методом серийных разведений в бульоне (макротестом «пробирочным») и диско-диффузионным методом (ДДМ). В качестве тест-микроорганизмов использовали музейные штаммы микроорганизмов: *Pseudomonas aeruginosa* 27853 ATCC, *Escherichia coli* 25922 ATCC, *Staphylococcus aureus* 29213 ATCC, *Streptococcus pyogenes* 1238 ATCC, *Salmonella enteritidis* 5765 ATCC, *Shigella sonnei* S-форма 20, *P. aeruginosa* 453, *E. coli* M17 штамм, *S. aureus* 906, *Enterococcus faecalis* 2919 ATCC, *Citrobacter freundii* 101/57, *Proteus vulgaris* 222, *Klebsiella pneumoniae* 9172, *Bacillus cereus* 96. В качестве опытных исследовали штаммы микроорганизмов, изолированных из материала, взятого от больных ГБУЗ РМ РИКБ с неспецифическими заболеваниями органов дыхания и мочевыводящих путей, кишечника.

Результаты. Изучили 15 соединений, представляющих собой фторпроизводные индола и фторпирролохинолины. Установлено, что минимальные подавляющие концентрации (МПК) исследуемых соединений относительно музейных штаммов микроорганизмов составили в отношении *S. aureus* 29213 30-59,0 мкг/мл, *E. coli* 25922 80-108,0 мкг/мл, *P. aeruginosa* 27853 100-184,0 мкг/мл, *S. pyogenes* 1238 40-117,0 мкг/мл.

МПК исследуемых соединений относительно опытных штаммов микроорганизмов, выделенных от больных, составили: *Staphylococcus* spp. – 25,0-950,0 мкг/мл, *Pseudomonas* spp. – 90,0-1000,0 мкг/мл, *Streptococcus* spp. – 34,0-950,0 мкг/мл, *E. coli* – 76,0-1000,0 мкг/мл. При изучении спектра противомикробной активности исследуемых соединений установили, что фторпирролохинолины обладают различным спектром действия в отношении тест-штаммов и клинических штаммов микроорганизмов. Некоторые аминокислоты вообще были активны только в отношении представителей рода *Streptococcus* и только *S. pyogenes*. Некоторые исследуемые соединения не проявляли противомикробную активность.

Выводы. Выявили, что некоторые фторпроизводные индола и пирролохинолины проявляют противомикробный эффект относительно исследуемых штаммов микроорганизмов.

Objective – study antimicrobial activity pyrroloquinolines.

Materials and methods. The method of series dissolutions in the broth and disco-diffusion method have been used in order to determine the antimicrobial activity of the studied compositions. The used test-strains microorganisms are museums microorganisms: *Pseudomonas aeruginosa* 27853 ATCC, *Escherichia coli* 25922 ATCC, *Staphylococcus aureus* 29213 ATCC, *Streptococcus pyogenes* 1238 ATCC, *Salmonella enteritidis* 5765 ATCC, *Shigella sonnei* S-форма 20, *P. aeruginosa* 453, *E. coli* M17 train, *S. aureus* 906, *Enterococcus faecalis* 2919 ATCC, *Citrobacter freundii* 101/57, *Proteus vulgaris* 222, *Klebsiella pneumoniae* 9172, *Bacillus cereus* 96. Experienced microorganisms strains from different investigated material were isolated from patients of the Republican infectious clinical hospital with nonspecific diseases of respiratory, urinary tract, intestines.

Results. A total of 15 compositions were studied. These compositions are fluorinated derivatives of indole and fluorinepyrroloquinolines. It was found that minimum inhibitory concentration (MIC) of compositions against test-strains bacteria has following value for *S. aureus* – 29213 30-59,0 mcg/ml, *E. coli* – 25922 80-108,0 mcg/ml, *P. aeruginosa* – 27853 100-184,0 mcg/ml, *S. pyogenes* – 1238 40-117,0 mcg/ml.

The MIC of compositions against experienced strains bacteria has following value for: *Staphylococcus* spp. – 25,0-950,0 mcg/ml, *Pseudomonas* spp. – 90,0-1000,0 mcg/ml, *Streptococcus* spp. – 34,0-950,0 mcg/ml, *E. coli* – 76,0-1000,0 mcg/ml. The reported data suggest that the fluorinepyrroloquinolines possesses a different spectrum antimicrobial activity against test-strains microorganisms and clinical strains microorganisms. Some compounds showed activity against *Streptococcus* spp. and only *S. pyogenes*. For some compositions activity against microorganisms was noted.

Conclusions. A analysis of the obtained results shows that antimicrobial effect of some compounds with respect to test-strains microorganisms and the microorganisms strains extracted from the clinical material possesses a wide spectrum.

СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ ПЕЙЗАЖ И АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ШТАММОВ *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*, ВЫДЕЛЕННЫХ У ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ В ГОРОДЕ ИРКУТСКЕ

Степаненко Л.А., Боброва О.И., Джиоев Ю.П., Колбасеева О.В., Коган Г.Ю., Карноухова О.Г., Злобин В.И.

Иркутский государственный медицинский университет МЗ РФ, Иркутск, Россия

SEROLOGICAL LANDSCAPE AND ANTIBIOTIC RESISTANCE OF *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* STRAINS, ISOLATED FROM HEALTHY CHILDREN IN THE CITY OF IRKUTSK

Stepanenko L.A., Bobrova O.I., Dzhioev Y.P., Kolbaseeva O.V., Kogan G.Y., Karnoukhova O.G., Zlobin V.I.

Irkutsk State Medical University of the MH RF, Irkutsk, Russia

Пневмококк – один из главных возбудителей острых бактериальных инфекций у детей, особенно – в возрасте до пяти лет.

Цель исследований – оценить спектр серотипов и распространенность устойчивости к антибактериальным препаратам штаммов *S. pneumoniae*, выделенных у детей из организованных коллективов города Иркутска.

Материалы и методы. Обследовано 280 детей в возрасте от 2 до 5 лет, из них 37,5% – девочки и 62,5% – мальчики. Всех детей отнесли ко второй и третьей группам здоровья и не были привиты ПКВ (пневмококковая вакцина). Забор материала проводили с задней стенки носоглотки. Выделяли чистую культуру по морфологическим, тинкториальным, культуральным свойствам, чувствительности к оптохину и литическому действию желчи. Чувствительность к антибиотикам оценивали диско-диффузионным методом. Молекулярно-генетическое типирование осуществляли методом мультиплексной ПЦР на основе праймеров для локуса *cpsA*, помогающих выявлять 39 серотипов *S. pneumoniae*. Идентификацию продуктов ПЦР осуществляли в 2% агарозном геле.

Результаты. На основании микробиологических исследований был установлен уровень носительства *S. pneumoniae* среди обследованных детей, который составил 17,1% (48 детей). В группе носителей значительную часть составили штаммы *S. pneumoniae*, не чувствительные к ко-триметоприму (41,7±0,07%) и к пенициллину (35,4±0,06%). Отмечали снижение чувствительности штаммов пневмококка к эритромицину (14,6±0,05%), цефатоксиму и тетрациклину (12,5±0,04%).

При молекулярно-генетическом исследовании выявили, что среди носителей *S. pneumoniae* *cpsA*-положительные штаммы регистрировали у 52,1±0,07% детей. В общей сложности, среди носителей было обнаружено девять различных серотипов, из которых преобладали серотипы 6A/B/C (40,0±0,09%) и 19 F (12,0±0,07%). Невакцинные штаммы составили 20%, среди которых изоляты серогруппы 15 B/C – 12,0%, серотип 10A – 8,0% от общего числа штаммов. Остальные серотипы (14; 18A/B/C/F 3; 23F; 9V/A) наблюдали редко, доля каждого составляла от 4,0% до 8,0% от общего числа. Пневмококковая конъюгированная 13-валентная вакцина охватывала 80% выявленных серотипов.

Заключение. Полученными данными обоснована необходимость мониторинга распространенности антибиотикорезистентности и серотипового состава штаммов пневмококков с целью совершенствования антибактериальной терапии и специфической профилактики среди детского населения города Иркутска.

Pneumococcus - one of the main causative agents of acute bacterial infections in children, especially those under the age of five years.

The **purpose** of research - to assess the range of serotypes and prevalence of resistance to antibiotics of strains of *S. pneumoniae*, isolated from children of the organized groups of the city of Irkutsk.

Materials and methods. A total of 280 children aged 2 to 5 years were examined, of which 37.5% are girls and 62.5% are boys. All children attributed to the second and third groups of health and have not been vaccinated PCV (pneumococcal vaccine). Sampling was made from the posterior wall of the nasopharynx. Pure culture was isolated by morphological, tinctorial, cultural properties, sensitivity to optochin and lysis by bile. Sensitivity to antibiotics was assessed by disk diffusion method. Molecular genetic typing was performed by multiplex PCR based on *cpsA* locus primer which helps to identify 39 serotypes of *S. pneumoniae*. Identification of PCR products was performed in 2% agarose gel.

Results. On the basis of microbiological studies was established level of *S. pneumoniae* carriers among the children surveyed, which amounted to 17.1% (48 children). In the group of carriers considerable part was constituted by strain *S. pneumoniae*, non-sensitive to trimethoprim (41,7±0,07%) and penicillin (35,4±0,06%). Decrease in sensitivity to erythromycin (14,6±0,05%), tsefatoksimu and tetracycline (12,5±0,04%) was marked in pneumococcus strains.

Molecular genetic studies have revealed that among carriers *S. pneumoniae* *cpsA*-positive strains were recorded at 52,1 ± 0,07% of children. In total, among the carriers were found nine different serotypes, of which dominated serotypes 6A \ B \ C (40,0 ± 0,09%) and 19 F (12,0±0,07%). Non-vaccine strain amounted to 20%, among which 15 isolates of serogroup B \ C - 12.0%, serotype 10A - 8.0% of the total number of strains. The rest of the serotypes (14; 18A / B / C / F 3; 23F; 9V / A) were rarely observed, the share of each ranged from 4.0% to 8.0% of the total. Pneumococcal conjugate 13-valent vaccine covers 80% of the identified serotypes.

Conclusion. Received data substantiated the need to monitor the prevalence of antibiotic resistance and serotype composition of strains of pneumococci to improve antibiotic therapy and specific prevention among children of Irkutsk.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ВАРИАбельНОСТИ БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СТАФИЛОКОККОВ НА ТОЧНОСТЬ ИХ ИДЕНТИФИКАЦИИ

Степанов А. С., Гоменюк Н. А., Терехов А. Ю., Меглей А. С.

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

EVALUATION OF STAPHYLOCOCCAL BIOCHEMICAL FEATURES VARIABILITY IMPACT ON THEIR IDENTIFICATION ACCURACY

Stepanov A. S., Gomenuk N. A., Terechov A. Y., Megley A. S.

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

На сегодняшний день существует множество тест-систем для идентификации *Staphylococcus* spp. Также активно развивают направление масс-спектрометрической идентификации как альтернатива биохимическим тестам. Оба метода являются стандартизованными, но результаты идентификации могут различаться ввиду вариативности свойств микроорганизмов.

Цель исследования – оценка вариативности биохимических свойств *Staphylococcus* spp., идентифицированных с помощью Bruker MALDI-ToF MS.

Материалы и методы. Провели масс-спектрометрическую и биохимическую идентификацию 23 изолятов *Staphylococcus* spp. с помощью Bruker MALDI-ToF MS и STAPHYTest 24 (Erba LaChema). Статистический анализ осуществляли с помощью программы Statistica 6.0: коэффициенты эксцесса, корреляции, критерий Стьюдента, вероятность ошибки.

Результаты. Для оценки степени соответствия биохимических признаков изолята табличным данным использовали коэффициент корреляции: наличие или отсутствие признака записывали двоичным кодом, далее оценивали степени корреляции полученных данных с табличными; отбор производили по наибольшему коэффициенту корреляции. 11 изолятов идентифицировали как *S. aureus*, 7 – как *S. epidermidis*, 3 – как *S. cohnii*, по 1 – как *S. simulans*, *S. warneri*,

S. haemoliticus с помощью MALDI-ToF MS. Различия в результатах биохимической и масс-спектрометрической идентификации составили 48%. В группе *S. aureus* они составили 20%, для коагулазонегативных стафилококков (КНС) – 77% (t-крит=5,77, p=0,015). Соответствие биохимических свойств стандартному профилю вида составило для *S. aureus* 82%, для КНС – 59,6% (t-крит=7,9, p=0,008); средний эксцесс кривой корреляций для *S. aureus* – 1,51, для КНС – 0,33 (t-крит=9,19, p=0,006).

Выводы. Биохимические свойства КНС, в сравнении с *S. aureus*, отличаются высокой вариабельностью, что приводит к неточной видовой идентификации, так как некоторые виды характеризуются общностью свойств. Таким образом, при проведении биохимической идентификации стафилококков необходимо ориентироваться также на источник выделения (человек, животное или абиотический субстрат) и данные о частоте встречаемости отдельных видов в исследуемом материале.

УЛЬТРАСТРУКТУРА ЛАТЕРАЛЬНЫХ КЛЕТОЧНЫХ СТЕНОК, СЕПТ И СЕПТАЛЬНОГО ПОРОВОГО АППАРАТА КЛЕТОК ВЕГЕТАТИВНОГО МИЦЕЛИЯ *SCEDOSPORIUM APIOSPERMUM*

¹Степанова А.А., ²де Хоог Г.С., ¹Васильева Н.В., ¹Чилина Г.А.

¹ НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия; ²Центральная коллекция культур грибов Центра по изучению биоразнообразия грибов, Утрехт, Нидерланды

ULTRASTRUCTURE OF LATERAL CELL WALLS, SEPTA AND SEPTAL PORE APPARATUS OF THE CELLS OF VEGETATIVE MYCELIUM OF *SCEDOSPORIUM APIOSPERMUM*

¹Stepanova A.A., ²de Hoog G.S., ¹Vasilyeva N.V., ¹Chilina G.A.

¹ Kashkin Research Institute of Medical Mycology of North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia; ²Centraalbureau voor Schimmelcultures Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands

The aim of the present work was comparative ultrastructural analysis of the lateral walls, septa and septal pore apparatus (SPA) of the cells of vegetative mycelium of two strains cultures of type species of the genus *Scedosporium* – *S. apiospermum* and comparison this data, from one side, with its teleomorph – *Pseudallescheria boydii* and, from other side, – another species from this genus – *S. aurantiacum*.

Materials and methods. The two strains (RCPF-1491/1057 and RCPF-1490/712) of *S. apiospermum* Sacc. Ex Castell. & Chalm. from Russian collection of pathogenic fungi) were cultured in vitro on potato dextrose agar (20 days incubation at 28 °C). The pieces of medium with different part of fungal colonies after 7 and 20 days of cultivation were fixed for 3 h in 3% glutaraldehyde and post-fixed in 1% osmium tetroxide during 10 h. Then samples were dehydrated through series of ethanol and acetone and embedded in epon-araldite epoxy resin for transmission electron microscopy. Ultrathin sections were examined under a transmission electron microscope JEM-100 CX II.

Results and discussion. The thickness of the lateral cell walls of aerial and submerged vegetative mycelium was similar in investigated strains of *S. apiospermum* (Table) and it has formed 0,05 µm. Differences in this parameter among the investigated strains of *S. apiospermum*, *S. aurantiacum* and *P. boydii* species was not revealed. The cells of submerged mycelium of *S. apiospermum* possess with outer thick extracellular matrix, which composed with dark homogenous irregular clots and tightly and random localized dark microfibrils. Extracellular matrix more good developed in investigated *P. boydii* and *S. aurantiacum*. For the hyphal cells of investigated strains of *S. apiospermum* was typical thin, straight, light septa with central pore. The SPA consist from Woronin bodies (WB), crystalline spherical satellites and pore plugs. The WB was membrane-bound component of SPA in comparison with crystalline satellites which have not outer «coat» – boundary membrane. The WB was spherical, with irregular density core. For comparison, in *P. boydii* we revealed also spherical WB. The median diameter of WB was equal (0,17 µm, table) for cells of both investigated strains. The diameter of WB was larger than the diameter of the septal pore. It was important, that in addition to WB, we revealed in the hyphal cells of investigated strains, as in *P. boydii*, the spherical median electron density crystalline-satellites

which diameter was less than same of WB (Table).

Table
The quantitative parameters of lateral cell walls, septa and components of septal pore apparatus in the cells of vegetative mycelium of *Scedosporium apiospermum*

RCPF (strains №)	Thickness of lateral cell walls of the aerial and submerged hyphae, µm	Thickness of extra-cellular matrix of submerged hyphae, µm	Septum thickness, µm	Diameter of the septal pore, µm	Woronin bodies diameter, µm	The number of the Woronin bodies on median section of septa	Diameter of crystalline satellites in septal pore apparatus, µm	The number of crystalline satellites on median section of septa
1491/1057	0,05	0,20	0,05	0,15	0,17	1-3	0,13	1-2
1490/712	0,05	0,18	0,05	0,16	0,17	1-3	0,14	1-2

The maximum number of crystalline satellites was 2 in *S. apiospermum* and *P. boydii* strains. Plugs were common components of SPA of mature hyphal cells of *S. apiospermum*. They were large, dark, homogenous, variable in form on median sections (spherical, irregular and rectangle), symmetrical or asymmetrical, completely or partially fill of the septal pore content.

Resume. No difference was revealed in thickness and structure of lateral cell walls and its extracellular matrix, in quantitative parameters and structure of septa of vegetative mycelium of investigated strains of *S. apiospermum*. Hyphal cells all had thin, straight, light septa with central pore. Vegetative cells of *S. apiospermum* had more complex SPA than *S. aurantiacum*, and contain crystalline satellites. *S. apiospermum* and *P. boydii* had equal number of spherical WB and identical number of spherical crystalline satellites. Ultrastructural signs are invariable between these closely related species, which are hetero- and homothallic, respectively. It was important that SPA of investigated strains of *S. aurantiacum* differed from *S. apiospermum* by the absence of crystalline satellites and the presence larger number of ellipsoidal WB (up to 4-7 on median section of septa). Ultrastructural differences between the remaining species of *Scedosporium* data are expected to be concordant with phylogenetic distances.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ КЛЕТОЧНЫХ КОМПОНЕНТОВ В ПЕРИОД ПОЧКОВАНИЯ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ДРОЖЖЕЙ

¹Степанова А.А., ²Ямагучи М., ²Шимицу К., ²Кавамото С., ¹Васильева Н.В.

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова; НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина и кафедра медицинской микробиологии, Санкт-Петербург, Россия; ²Центр исследований по медицинской микологии, Университет, Чiba, Япония

COMPARATIVE ULTRASTRUCTURAL ANALYSIS OF CELLULAR COMPONENTS DURING BUDDING OF SOME YEAST SPECIES

¹Stepanova A.A., ²Yamaguchi M., ²Shimizu K., ²Kawamoto S., ¹Vasilyeva N.V.

¹I.I. Mechnikov North-Western State Medical University: Kashkin Research Institute of Medical Mycology, St. Petersburg, Russia; ²Medical Mycology Research Center, Chiba University, Chiba, Japan

The goal of the present work was to carry out the comparative ultrastructural analysis of cellular components during budding on 4 species from different genus (*Cryptococcus*, *Rhodotorula* and *Malassezia*).

Materials and methods. The cultures of *Cryptococcus albidus* (№5763), *C. laurentii* (№50262), *Rhodotorula minuta* (№5756) and *Malassezia pachydermatis* (№40199) from Culture Collection of the Research Center of Pathogenic Fungi, Chiba University, Japan) was cultivated for 24 hour in YPD medium (1% (w/v) yeast extract, 2% (w/v) bactopecton and 2% (w/v) glucose on shaker at 30 °C. For TEM the cells were collected by centrifugation and then freeze-substituted.

Results and discussion. Significant differences in organelles topography, quantity and quality in contents of budding mother cells in dependence of fungal genus were revealed. Topographically relationships

between interphase nucleus and vacuoles during budding in the 2 species of one genus (*Cryptococcus*) were identical, but differed among the species of different genus. Investigated species divided on the 3 distinct groups concordant with criteria of its functional ultrastructural activity. First group, with high level of activity, regarding of the fine structure, during budding was revealed in *R. minuta*. Second group, with median level of organelle activity was observed in *C. albidus* and *C. laurentii*. In cytosol of mother cells of *C. albidus*, *C. laurentii* and *R. minuta* during early stages of bud formation we observed the proliferation of mitochondria with developed one giant organelle, which concentrated around nucleus of mother cell. Only in *R. minuta* we revealed repeated presence of giant mitochondria during daughter cell morphogenesis to the mother one; this peculiarity in cell cycle accelerate the temp of growth of cells and give this species specific priority. Third group, with lower level of activity was discovered respectively in *M. pachydermatis*. For mother cells of this species before and during budding was typical the lower level of vacuolization, small number of mitochondria, presence of single cistern of ER, absence of secretory vesicles and presence of big lipid inclusion opposite budding scar. During process of bud morphogenesis the number mitochondria, storage lipids and cisterns of ER was not increased contrary with volume of cytosol and numbering of free ribosomes. Obtained data according the difference in organellography during the budding of yeast cells, may be very important for phylogenetic investigations. Perhaps, if suppose, that during evolution the analyzed yeast species pass the process of «energization», so that the phylogenetic relations between them may be as follows: *Malassezia* → *Cryptococcus* → *Rhodotorula*. But may be more «economical» pattern of budding, which we revealed for *M. pachydermatis* (transportation of «ready» storage inclusion from mother cells into daughter one and absence of mitochondrial proliferation and etc.), was phylogenetically more advanced? Revealed differences in patterns of organelles transition during budding yeast cells of investigated species indirectly may demonstrated differences in «rapidity» of this process. Interesting, that despite the fact, that we revealed during budding in mother cells considerable differences in ultrastructural changes in dependence of genus, the regularity of organelles transition and appearance in developing buds were identical. Common for formed bud of all species was that they obtained the same and «minor» number of organelles from mother cells.

Resume. In our opinion, subsequent investigations of another yeast species from one genus, from different genus of one family or different family permit to solve the question about taxonomical importance of revealed differences.

МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ-ДЕСТРУКТОРЫ ПОМЕЩЕНИЙ АРХИВОХРАНИЛИЩА АУДИО-ВИДЕО- ДОКУМЕНТОВ

Суббота А.Г., Наконечная Л.Т.

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К.Заболотного НАН Украины, Киев, Украина

MICROSCOPIC FUNGI-DESTRUCTORS OF PREMISES ARCHIVES OF AUDIO VIDEO DOCUMENTS

Subbota A.G., Nakonechnaya L.T.

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine, Kiev, Ukraine

Цель исследования – изучение видового состава микроскопических грибов в цокольных помещениях архивохранилища аудио- видео- документов.

Материалы и методы. Исследовали воздух и внутренние поверхности стен с локальными участками глубокой деструкции штукатурного слоя. Пробы воздуха отбирали на твердые питательные среды в чашки Петри, применяя пробоотборник воздуха «Тайфун» (P 40). Количество выделенных микроскопических грибов выражали в колониеобразующих единицах на 1 м³ воздуха (КОЕ/м³). Микроскопические грибы из пораженных участков стен выделяли, культивировали и идентифицировали, используя общепринятые в микробиологии методы.

Результаты. Выделено и идентифицировано 30 видов микромикетов родов *Acremonium*, *Alternaria*, *Apiospora*, *Aspergillus*, *Botryotrichum*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Penicillium*, *Pereconia*, *Phialophora*, *Phoma*, *Scopulariopsis*, *Ulocladium*, *Tritirachium*. Наибольшим количеством видов представлен род

Acremonium, среди которых только один выделен из пораженного участка стены, остальные 5 – из воздуха. Общими для микобиоты воздуха и стен были виды: *Alternaria longipes*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Geotrichum candidum*, *Phialophora fastigiata*, *Tritirachium album*, из них с наибольшей частотой обнаруживали *Aspergillus versicolor*, выделенный из каждого из обследованных помещений. Некоторые виды были характерными только для микобиоты воздуха помещений хранилища – *Acremonium araneum*, *A. breve*, *A. cavaranum*, *A. potronii*, *A. strictum*, *Apiospora montegne*, *Aspergillus flavus*, *Cladosporium herbarum*, *Phoma destructive*, *Tritirachium roseum*, *Ulocladium chartarum*. Микобиота стен представлена видами: *Acremonium roseum*, *Aspergillus sulphureus*, *Botryotrichum piluliferum*, *Fusarium solani*. Отметим, что в микобиоте воздуха и поверхностей стен контрольного помещения (без деструкции стен) наблюдали наличие *Aspergillus niger*.

Заключение. Полученные результаты исследования служат показателем того, что в микобиоте помещений архивохранилища доминирует *Aspergillus versicolor*, и часто встречаются виды р. *Acremonium*, которые могут негативно влиять на здоровье работающих лиц. Кроме того, они могут поражать документные фонды.

The purpose of the research was to study the species composition of microscopic fungi found in the basement premises of archive of audio video documents.

Materials and methods. Air indoor and the samples internal of walls surfaces with local areas of deep destruction of the plaster layer were examined. Air samples were collected on solid nutrient media in Petri dishes using air sampler «Typhoon» (P 40). Number of isolated microscopic fungi was expressed in units per 1 m³ of air (cfu / m³). Microscopic fungi isolated from walls, were identified using conventional techniques in microbiology.

Results. 30 species of micromycetes belonging to genera *Acremonium*, *Alternaria*, *Apiospora*, *Aspergillus*, *Botryotrichum*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Penicillium*, *Pereconia*, *Phialophora*, *Phoma*, *Scopulariopsis*, *Ulocladium*, *Tritirachium* were isolated and identified. The genus *Acremonium* was represented by the largest number of species, one of which was isolated from the affected areas of the wall and five – from air. Next species were found both in the air and on the walls: *Alternaria longipes*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Geotrichum candidum*, *Phialophora fastigiata*, *Tritirachium album*, the most frequently isolated micromycetes species found in every examined room was *Aspergillus versicolor*. Some species were found only indoor air of the archive - *Acremonium araneum*, *A. breve*, *A. cavaranum*, *A. potronii*, *A. strictum*, *Apiospora montegne*, *Aspergillus flavus*, *Cladosporium herbarum*, *Phoma destructive*, *Tritirachium roseum*, *Ulocladium chartarum*. Mycobiota of walls was represented by species of the genus *Acremonium roseum*, *Aspergillus sulphureus*, *Botryotrichum piluliferum*, *Fusarium solani*. It should be noted that the presence of *Aspergillus niger* was detected in air and on the wall surfaces of the control room where no wall destruction was observed.

Conclusion. The obtained results of the study are indicative of the fact that in the mycobiota of archive premises is dominated by *Aspergillus versicolor*, and fungi belonging to the genus *Acremonium* which can affect the health of employees are often detected. In addition, they can damage the audio video documents.

АНТИФУНГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ БИОЦИДА «ВАЛЕУС Д» В ОТНОШЕНИИ ГРИБОВ – ДЕСТРУКТОРОВ БУМАГИ

¹Суббота А.Г., ¹Чуенко А.И., ¹Письменная Ю.Б., ²Мозговая С.Г., ²Затока Л.П., ²Бальяница Н.Б.

¹Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К.Заболотного НАН Украины, ²Национальная библиотека имени В.И. Вернадского, Киев, Украина

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF BIOCIDES «VALEUS-D» TO FUNGI-DESTRUCTOR OF PAPER

¹Subbota A.G., ¹Chuenko A.I., ¹Pysmennaya Yu.B., ²Mozgovaya S.G., ²Zatoka L.P., ²Balyanitsa N.B.

¹Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine; ²V. Vernadskyi National Library of Ukraine, Kiev, Ukraine

Цель исследования – изучить антифунгальное действие биоци-

да «Валеус Д» на грибы, выделенные из микобиоты библиотечных фондов.

Материалы и методы. Исследовали часто встречающиеся грибы – *Alternaria tenuissima*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* и биоцид на основе полигексаметиленгуанидинов «Валеус-Д» с pH 9. Действие водного раствора биоцида изучали, выполняя последовательные разведения антисептика «Валеус-Д» в диапазоне концентраций 0,008-4% в жидкой питательной среде, используя ряд из 10 пробирок для каждого из видов микроскопических грибов. С помощью камеры Горяева готовили суспензию с концентрацией $1 \cdot 10^6$ спор микроскопических грибов в 1 мл, которую вносили в пробирки с растворами «Валеус-Д» в количестве 1 мл. Культивирование проводили при 28 °C в течение 14 сут. Результаты учитывали при наличии роста культур в контроле. Концентрацию, при которой наблюдали задержку роста микромицетов, считали фунгистатической для исследованных видов грибов. Из таких пробирок делали пересев на агаризованное сусло в чашки Петри. Отсутствие роста на 7 сутки после посева являлось показателем фунгицидного действия соответствующей концентрации.

Результаты. Все исследованные концентрации водного раствора «Валеус-Д» имели фунгицидное действие на грибы *A. tenuissima* и *A. niger*. Для *T. viride* фунгицидное действие оказывала концентрация 0,016%, фунгистатическое – 0,008%, что дает возможность принять концентрацию 0,016% в качестве оптимальной для подавления роста данных видов грибов.

Заключение. В результате изучения антифунгальной активности, биоцид «Валеус-Д» в концентрации 0,016% можно предложить в качестве фунгицида для обработки хранилищ документов, пораженных микроскопическими грибами.

Aim of study – to examine antifungal action of the biocide «Valeus-D» for fungi that were isolated from mycobiota of the librarian stocks.

Materials and methods. It has been studied fungi that occurred frequently (*Alternaria tenuissima*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*) and biocide «Valeus-D» (pH 9) based on polyhexamethyleneguanidines. An action of the biocide solution has been studied by carrying of serial dilutions of the antiseptic «Valeus-D» in range of concentrations of 0,008-4% in liquid nutrient medium, using the line of 10 tubes for each species of microscopic fungi. The dispersion with concentration of conidia $1 \cdot 10^6$ cell/ml that had been prepared by using Goryaev chamber was inserted into the tubes with solutions of «Valeus-D». The incubation was carried on 28 °C during 14 days. The results were taken into account only in the presence of culture's growth in the control. The concentration that limited the growth of micromycetes had been considered as fungistatic. The passage from those tubes was carried to the agar mesh of Petri dish. The absence of growth on 7 day after the passage has been considered as fungicidal action of the corresponded concentration.

Results. All investigated concentrations of water solution of «Valeus-D» had fungicidal action on fungi *A. tenuissima* и *A. niger*. As for *T. viride*, fungicidal action was detected in concentration of 0,016% of water solution of «Valeus-D», while fungistatic action was detected in 0,008%, that is capable to accept the concentration of 0,016% as optimal for suppression of growth of these fungal species.

Conclusion. As the result of studying of antifungal activity, the biocide «Valeus-D» in concentration of 0,016% can be put forward as fungicide for the treatment of documents storages that are diseased by microscopic fungi.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ШТАММОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*, ПРОДУЦИРУЮЩИХ МЕТАЛЛО-БЕТА-ЛАКТАМАЗЫ В СТАЦИОНАРАХ ЛИПЕЦКА

Сухова Л.П., Астахова М.В., Мигита О.А., Филатова М.В.

Центр бактериологических исследований «Областной кожно-венерологический диспансер, Липецк, Россия

THE SPREADING OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* MBL-PRODUCING STRAINS IN HOSPITALS IN LIPETSK

Suhova L.P., Astakhova M.V., Migita O.A., Filatova M.V.

Center of bacteriological studies «Regional dermatovenerologic dispensary», Lipetsk, Russia

Резистентность к β-лактамам антибиотикам, обусловленная экспрессией металло-бета-лактамаз (МБЛ), в настоящее время

становится все более распространенной среди грамотрицательных неферментирующих бактерий (ГНБ), в частности *Pseudomonas aeruginosa*. Распространение МБЛ среди ГНБ, являющихся основными возбудителями госпитальных инфекций в России, может привести к возникновению очагов резистентности в стационарах и постаить под угрозу эффективность терапии карбапенемами, в целом.

Цель исследования – оценить распространенность штаммов *P. aeruginosa*, продуцирующих МБЛ в стационарах г. Липецка.

Материалы и методы. В рамках нацпрограммы мониторинга распространения штаммов грамотрицательных микроорганизмов, продуцирующих МБЛ в России «МЕТАЛЛ», за период с февраля 2012 по октябрь 2014 г. в 5 стационарах г. Липецка было собрано 129 штаммов *P. aeruginosa*, резистентных к меропенему и/или имипенему, продуцирующих МБЛ. Фенотипический скрининг экспрессии МБЛ проводили методом «двойных дисков с ЭДТА». Данные по антибиотикорезистентности и чувствительности к дезинфектантам и антисептикам анализировали при помощи программы «WHONET».

Результаты. В период 2012-2014 гг. штаммы *P. aeruginosa*, продуцирующие МБЛ, обнаружили в 5 стационарах г. Липецка. Самый распространенный вид клинического материала – раневое отделяемое, из которого выделено 73% МБЛ-продуцирующих штаммов *P. aeruginosa*. По данным компьютерного мониторинга, в хирургических стационарах г. Липецка МБЛ-продуцирующие штаммы распространены в ОРИТ (100%), урологических отделениях (66,7%), ожоговом отделении ГБ «Св. Сокол» и ОГХ Г БСМП №1 (66,7 %) и нейрохирургии (46,7%) ГБ СМП №1. За последние годы наблюдали снижение количества инфекций, вызванных синегнойной палочкой в большинстве стационаров г. Липецка, и уменьшился удельный вес МБЛ-продуцирующих штаммов. В настоящее время, по сравнению с 2007 г., произошло значительное снижение числа штаммов, устойчивых к амикацину, гентамицину – с 81,5% до 28,6%, ципрофлоксацину – с 77,8% до 25%, имипенему – с 42,5% до 16,7%, цефтазидиму – с 65,2% до 28,6%.

При исследовании чувствительности штаммов *P. aeruginosa*, обладающих ферментом МБЛ к дезинфектантам и антисептикам, выявили, что 100% штаммов были устойчивы к спитадерму, йодоперону, диохлору, сульфаклорантоину, лизанину. Значительный процент устойчивости отмечали к 1-2% раствору лизафина (46,5%), никосепту (80%). 100% штаммов имели чувствительность к 3-6% перекиси водорода, ну-сайдексу, хлоргексидину, велтосепту, софтаману, жавель-солиду.

Выводы. Установили, что в стационарах г. Липецка происходит снижение количества полирезистентных штаммов *P. aeruginosa* и штаммов, продуцирующих МБЛ, что является показателем грамотного назначения антимикробных препаратов.

ВЛИЯНИЕ ФЕРМЕНТОВ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА НА РОСТ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Тарасенко Т.Н., Габалов К.П., Малинин М.Л.

Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт, Саратов, Россия

INFLUENCE OF ENERGY METABOLISM ENZYMES ON THE GROWTH OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Tarasenko T.N., Gabalov C.P., Malinin M.L.

Saratov Scientific Research Veterinary Institute, Saratov, Russia

Цель работы – изучение влияния ферментов энергетического обмена на рост *Pseudomonas aeruginosa* в искусственной среде и в плазме крови животных.

Материалы и методы. Бактериальные культуры выращивали в жидких питательных средах (МПБ и растворе Рингера с пептоном). Определение активности ферментов проводили на полуавтоматическом биохимическом анализаторе BS 3000 P Sinnova (КНР) унифицированными кинетическими методами. Влияние ферментов на скорость роста *P. aeruginosa* изучали, добавляя культуральные жидкости (КЖ) в среду. Влияние ферментов макроорганизма на скорость роста *P. aeruginosa* исследовали *in vitro* в плазме крови кроликов.

Результаты. В КЖ различных изолятов *P. aeruginosa* обнаружили активность ферментов аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), креатинкиназы (КК) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ). Установлено, что скорость роста культур синегнойной палочки в МПБ при добавлении КЖ различных изолятов *P. aeruginosa* прямо пропорциональна активности трансаминаз АСТ и

АЛТ и зависит от концентрации низкомолекулярных продуктов катализируемых ими реакций – пирувата и α -кетоглутарата, для которых коэффициенты множественной корреляции со скоростью роста бактериальных культур превышали 0,9 ($p < 0,05$). Выявленная зависимость была наиболее выражена в физиологическом (для животных) диапазоне концентраций этих веществ.

Показана прямая зависимость скорости роста *P. aeruginosa* в плазме крови кроликов *in vitro* от активности АЛТ и КК. Внесение убитых клеток *P. aeruginosa* в плазму крови сопровождалось изменением активности этих ферментов, по сравнению с контролем, в неблагоприятную для роста *P. aeruginosa* сторону, что было подтверждено коррелирующим с активностью АЛТ и КК торможением роста псевдомонад при последующей инокуляции данных образцов живыми клетками *P. aeruginosa*.

Заключение. К биохимическим факторам плазмы крови, участвующим в защите организма от поражения псевдомонадами, следует отнести, наряду с бактерицидным действием компонента, активность некоторых ферментов, в частности, АЛТ и КК.

Purpose – to study the influence of energy metabolism enzymes on the growth of *Pseudomonas aeruginosa* in an artificial culture medium and in animals blood plasma.

Materials and methods. Bacterial cultures were grown in the liquid media (meat infusion broth (MIB) and the peptone supplemented Ringer solution). The determination of enzyme activity was carried out on a semi-automatic biochemical analyzer BS 3000 P Sinnova (China) by standard kinetic methods. The influence of enzymes on the growth rate of *P. aeruginosa* was studied by adding culture fluid (CF) to the growth medium. Effect of enzymes on the growth rate of the *P. aeruginosa in vitro* was investigated in rabbit blood plasma.

Results. In CF of different isolates of *P. aeruginosa* the activity of enzymes alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH) were found. The growth rate of cultures of *Pseudomonas aeruginosa* in the MIB when adding CF of different isolates of *P. aeruginosa* has been found to associate with transaminases AST and ALT activity and to depend on concentration of low molecular weight products of the reactions (pyruvate and α -ketoglutarate), which they are catalyzed and have multiple correlation coefficients of bacterial cultures growth rate above 0,9 ($p > 0,005$). Determined dependence was most characteristic for the physiological range of these substances (for animals).

The direct dependence of growth rate *P. aeruginosa* in the rabbit blood plasma with activity of ALT and CK *in vitro* was shown. The injection of killed *P. aeruginosa* cells to the blood plasma was accompanied by a change of these enzymes activity. Furthermore this change is unfavorable for growth of *P. aeruginosa* in comparison with control samples. It was confirmed inhibition of growth *P. aeruginosa* which correlates with CK and ALT activity at subsequently inoculated these samples by living cells of *Pseudomonas* spp.

Conclusion. Along with the bactericidal action of the complement there is a need to associate the activity of some of the enzymes, in particular ALT and CK to some of the biochemical factors of blood plasma involved in the protection of the organism from *P. aeruginosa* damage.

ВЫЖИВАЕМОСТЬ НЕКОТОРЫХ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ ПРИ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ С ПРИРОДНОЙ АССОЦИАЦИЕЙ МИКРООРГАНИЗМОВ «ТИБЕТСКИЙ РИС»

Тихомирова О.М., Самойлова М.А.

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

SURVIVAL OF SOME MOULDS DURING CO-CULTIVATION WITH NATURAL MICROBIAL ASSOCIATION «TIBETAN RICE»

Tikhomirova O.M., Samoylova M. A.

St. Petersburg Chemical-Pharmaceutical Academy, St. Petersburg, Russia

Природная ассоциация микроорганизмов «Тибетский рис» (ТР), включающая молочнокислые, уксуснокислые бактерии и дрожжи и структурированная в виде зерен, привлекает внимание как в качестве источника оригинальных штаммов с разнообразными проявлениями биологической активности, так и в качестве закваски при по-

лучении кисломолочного продукта с антимикробным, иммуномодулирующим, общеукрепляющим действием. Ранее было описано угнетение роста ряда мицелиальных и дрожжевых грибов продуктами метаболизма микроорганизмов-ассоциантов, полученными на определенных стадиях культивирования.

Цель работы – изучение способности микроорганизмов ассоциации ТР подавлять жизнедеятельность некоторых мицелиальных грибов при совместном культивировании.

Материалы и методы. В качестве тест-микроорганизмов использовали 10 штаммов грибов родов *Aspergillus* и *Penicillium* (3 штамма *A. niger*, 2 штамма *A. oryzae*, по 1 штамму *A. clavatus*, *A. ochraceus*, *Penicillium expansum*, *P. funiculosum*, *P. purpurogenum*). Грибы выращивали в течение 5-7 суток на агаре Сабуро при $22,5 \pm 0,5$ °C, после чего получали суспензию конидий в стерильном фосфатном буфере с добавлением 0,05% твина-80 (10^3 и 10^5 кон/мл). Взвесь конидий вносили в молочно-сахарную среду в соотношении 1:100 (по объему) и добавляли зерна ТР. Культивирование проводили в течение 5 суток при $22,5 \pm 0,5$ °C. В начальный момент времени и, затем, каждые 12 ч из культуральной жидкости делали высевы на агар Сабуро для определения числа жизнеспособных конидий. Контролем служил рост соответствующего тест-микроорганизма на молочно-сахарной среде без добавления ТР. Выживаемость оценивали как отношение числа выживших конидий к исходному их количеству, внесенному в питательную среду, и выражали в процентах.

Результаты. В процессе ферментации конидии всех исследованных штаммов грибов не прорастают, при этом количество жизнеспособных конидий в среде быстро уменьшается. При исходном содержании грибов в питательной среде 10 кон/мл число конидий существенно снижалось уже через 24 ч совместного культивирования (для грибов рода *Aspergillus* – на 92-99%, для представителей рода *Penicillium* – на 87-95%). Начиная с 3 суток культивирования, жизнеспособные конидии вообще не выявляли. При более высокой исходной нагрузке (10^3 кон/мл в среде) к концу 1 суток культивирования снижение числа жизнеспособных конидий составило: для аспергиллов – 83-96%, для пенициллов – 79-90%. На 3-4 сутки отмечали только единичные конидии, после чего в высевах жизнеспособных конидий не обнаруживали. Отметим, что во всех случаях скорость отмирания тест-микроорганизмов была выше, чем скорость снижения значения pH в процессе ферментации. Данным фактом подтверждено предположение о том, что антагонизм микроорганизмов ассоциации ТР в отношении мицелиальных грибов обусловлен не только органическими кислотами, но и веществами иной химической природы.

Выводы. Полученными результатами показана высокая устойчивость микробиоты ассоциации ТР к контаминации мицелиальными грибами в процессе ферментации. Кроме того, выраженное ингибирование микробиотой ТР прорастания конидий широко распространенных грибов-аскомицетов является показателем перспективности дальнейших исследований антагонистического действия ассоциантов как потенциальной основы для получения профилактических антигрибковых препаратов.

Natural microbial association "Tibetan rice" (TR) includes lactic acid bacteria, acetic acid bacteria and yeasts and is structured in the form of grains. TR is of great interest as a source of original strains with diverse biological activity and as a starter for production of fermented beverage with antimicrobial, immunomodulatory and metabolism-enhancing effects. Inhibition of growth of a number of moulds and yeasts by metabolic products of TR associants obtained at certain cultivation stages was described previously.

Aim: To investigate the ability of microorganisms of TR association to inhibit growth of some moulds in mixed cultures.

Materials and Methods. 10 strains of the genera *Aspergillus* and *Penicillium* (3 strains of *A. niger*, 2 strains of *A. oryzae*, 1 strain of each of *A. clavatus*, *A. ochraceus*, *Penicillium expansum*, *P. funiculosum*, *P. purpurogenum*) were used as indicator organisms in this study. Fungal strains were cultivated on Sabouraud dextrose agar at 22.5 ± 0.5 °C for 5-7 d. After growing, fungal conidia were harvested from slants to prepare inoculums containing $1 \cdot 10^3$ and $1 \cdot 10^5$ conidia ml⁻¹ in sterile phosphate buffer with 0.05% tween 80. Conidial suspensions were inoculated (1:100, v/v) into milk sucrose liquid medium and grains of TR were added. Mixed cultures were incubated for 5 d at 22.5 ± 0.5 °C. Samples taken from the cultivation broth at the initial time point and then at 12 h interval were inoculated onto Sabouraud dextrose agar for conidial viability determination. Growth of each indicator strain on milk sucrose medium without the addition of TR grains was used as control. Viability was determined as the percentage of viable conidia relative to their initial num-

ber in the medium.

Results. Conidia of all indicator fungal strains did not germinate during TR fermentation, the number of viable conidia in the cultivation broth decreases rapidly. The numbers of viable conidia (with the initial concentration 10 conidia ml⁻¹ in the milk sucrose medium) were significantly reduced after 24 h of co-cultivation (by 92-99% for *Aspergillus* species and by 87-95% for *Penicillium* species). After 3 d of co-cultivation viable conidia were not detected. At a higher conidial load (10³ conidia ml⁻¹) after 1d of co-cultivation the number of viable conidia decreased by 83-96 % for *Aspergilli* and by 79-90% for *Penicillii* compared to the control. After 3-4 d of co-cultivation only single conidia were detected and then no viable conidia were found. It should be noted that in all cases the rate of inactivation of indicator strains were higher than the rate of pH reduction during the fermentation. This fact confirms the assumption that the antagonism of TR microorganisms against moulds is due not only to organic acids but also to substances of other chemical nature.

Conclusions. The results of this investigation demonstrate that microbiota of TR association is highly resistant to contamination by filamentous fungi during the fermentation process. Furthermore the pronounced inhibition of conidial germination of widespread ascomycetous fungi is an indication of the prospects of further studies of antagonistic effect of the TR associates as a potential basis for the development of prophylactic antifungal drugs.

АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА И АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ПРИ РАЗНООБРАЗНЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ ПРОЦЕССАХ

Тугушева А. Г., Зайцева Е. А.

Тихоокеанский государственный медицинский университет МЗ РФ, Владивосток, Россия

ADHESIVE PROPERTIES AND ANTIBIOTIC RESISTANCE OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* PICKED OUT IN A VARIETY OF INFECTIOUS PROCESSES

Tugusheva A. G., Zaitseva E. A.

Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia

Цель работы – изучение адгезивных свойств *Staphylococcus aureus*, выделенных при разнообразных инфекционных процессах.

Материалы и методы. Исследовали культуры *S. aureus* (n=31), выделенные от пациентов при инфекциях мочевыделительной системы (n=15), гнойном инфекционном процессе (фурункул, карбункул) (n=14), из объектов окружающей среды (n=1), при бактерионосительстве (n=1). Все стафилококки выделены в монокультуре. Их адгезивную способность изучали согласно методике В. И. Брилис с соавторами (1986) на эритроцитах O (I) группы крови Rh (+). Определяли средний показатель адгезии (СПА). Антибиотикорезистентность культур оценивали методом диско-диффузии в агар согласно МУК 4.2.1890-04, рассчитывали индекс множественной антибиотикорезистентности (ИМАР).

Результаты. При изучении адгезивных свойств *S. aureus*, выделенных при различных инфекционных процессах, установили, что культуры обладали способностью адгезироваться к эритроцитам в различной степени. Низкие показатели адгезии (СПА=1,01-2,0) наблюдали у 8 культур стафилококков, выделенных из гнойных ран (n=2) и при инфекции мочевыделительной системы (n=6). Эти культуры (100%) были резистентны к ампициллину, цефтазидину. ИМАР составил 0,09-0,22. Средний показатель адгезии (СПА=2,01-4,0) выявили у 51,6±8,9 % исследуемых стафилококков. Они были выделены из гнойных ран (n=9), при инфекциях мочевыделительной системы (n=5), объектов окружающей среды и от бактерионосителя. Стафилококки этой группы были устойчивы к амоксициллину (100%); ИМАР – в пределах 0,12-0,79. Высокие показатели адгезии (СПА≥4,01) обнаружили у 22,6±7,5% культур *S. aureus*, изолированных при гнойном инфекционном процессе (n=3) и инфекциях мочевыделительной системы (n=4). Эти микроорганизмы были резистентны к цефтазидину (100%). ИМАР составил 0,16-0,22.

Заключение. установили, что средней адгезивной способностью обладает большинство исследуемых культур золотистых стафилококков, независимо от места их выявления и характера инфекционного процесса.

The purpose of the investigation was to study adhesive properties of *Staphylococcus aureus* isolated in cases of various infections.

Materials and methods. The cultures of *S. aureus* (n = 22) isolated from patients with urinary tract infections (n = 15), pyogenic infections (furuncle, carbuncle) (n = 14), from environmental sample (n = 1) and from bacteria carrier person (n = 1) were investigated. All of the *Staphylococcus spp.* was isolated as a pure culture. Their adhesiveness was investigated using technology of V.I. Brilis et al. (1986) with erythrocytes of O (I) Rh (+) blood type. Mean adhesion value (MAV) was defined. Antibiotic resistance of the cultures was assessed using agar disk diffusion test according to methodological guidelines 4.2.1890-04, multiple antibiotic resistance (MAR) index was estimated.

Results. We investigated adhesive properties of *S. aureus* isolated from various infections. The cultures were established to demonstrate different value of adhesion to erythrocytes. Low level of adhesion (MAV = 1,01-2,0) was revealed in 8 cultures of staphylococci isolated from septic wounds (n = 2) and from patients with urinary tract infections (n = 6). These cultures (100%) were resistant to ampicillin, ceftazidime. MAR index was 0,09-0,22. Middle level of adhesion (MAV = 2,01-4,0) was revealed in 51,6±8,9% of investigated staphylococci. They were isolated from septic wounds (n = 9), patients with urinary tract infections (n = 5), environmental samples and bacteria carrier person. The staphylococci in this group were resistant to amoxicillin (100%); MAR index was in the range of 0,12-0,79. High level of adhesion (MAV ≥ 4,01) was revealed in 22,6±7,5% of *S. aureus* cultures isolated from patients with pyogenic infections (n = 3) and urinary tract infections (n = 4). These microorganisms were resistant to ceftazidime (100%). MAR index was 0,16-0,22.

Conclusion. Middle level of adhesion was established for the most of the investigated cultures of staphylococcus aureus irrespective of the sampling place and the nature of infectious process.

ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНК IN VITRO КЛИНИЧЕСКИМИ ШТАММАМИ *CANDIDA* *ALBICANS*, ВЫДЕЛЕННЫМИ ИЗ АСПИРАТОВ ТРАХЕИ ПАЦИЕНТОВ С БРОНХОЛЕГОЧНЫМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ В ОСТРОМ И РАННЕМ ПЕРИОДАХ ТРАВМАТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СПИННОГО МОЗГА

Ульянов В.Ю.¹, Определенцева С.В.¹, Дроздова Г.А.², Норкин И.А.¹, Нечаева О.В.³

¹Саратовский НИИ травматологии и ортопедии, Саратов;

²Российский университет дружбы народов, Москва; ³Саратовский государственный медицинский университет, Саратов, Россия

THE FORMATION OF BIOFILMS IN VITRO BY CLINICAL STRAINS OF *CANDIDA ALBICANS* ISOLATED FROM TRACHEAL ASPIRATES OF PATIENTS WITH PULMONARY COMPLICATIONS IN ACUTE AND EARLY PERIODS OF TRAUMATIC DISEASE OF THE SPINAL CORD

Ul'yanov V.Yu.¹, Opredelentzeva S.V.¹, Drozdova G.A.², Norkin I.A.¹, Nechaeva O.V.³

¹The Saratov research institute of traumatology and orthopedics, Saratov;

²The Peoples' Friendship University of Russia, Moscow;

³Saratov State Medical University, Saratov, Russia

Наиболее частым возбудителем микозов, сопровождающихся поражением трахеобронхиального дерева в посттравматическом периоде, являются *Candida spp.*, в том числе – *C. albicans*, патогенность которых обусловлена формированием биопленок.

Цель работы – изучение способности к пленкообразованию в статических условиях культивирования клинических штаммов *C. albicans*, выделенных из аспиратов трахеи пациентов с бронхолегочными осложнениями в остром и раннем периодах травматической болезни спинного мозга.

Материалы и методы. В исследование были включены 10 клинических штаммов *C. albicans*. Группу сравнения составили эталонные штаммы *C. albicans* ATCC 885-653. Образование биопленок эталонными и клиническими штаммами микроорганизмов оценивали по величине связывания ими кристаллического фиолетового в стерильных плоскостонных культуральных полистирольных планшетах.

Результаты. При культивировании биопленки, образованной

клиническими штаммами *C. albicans*, обнаруживали увеличение микробной биомассы на 2-е сутки в 9,5 раз ($p < 0,05$), на 3-и сутки – в 41,5 раз ($p < 0,05$) и на 4-е сутки – в 63,4 раза ($p < 0,05$). На 5-е сутки фиксировали уменьшение количества микробной биомассы, однако оно превышало контрольные значения в 36,1 раз ($p < 0,05$). При культивировании биопленки, образованной эталонными штаммами *C. albicans*, отмечали возрастание микробной биомассы на 2-е сутки в 6,3 раз ($p < 0,05$), на 3-и сутки – в 38,6 раз ($p < 0,05$) и на 4-е сутки – в 59,1 раз ($p < 0,05$). На 5-е сутки фиксировали тенденцию к уменьшению количества микробной биомассы, однако оно превышало контрольные значения в 31,4 раз ($p < 0,05$).

Заключение. Жизненный цикл биопленки, образованной клиническими и эталонными штаммами *C. albicans*, характеризовался последовательным возрастанием прироста микробной биомассы в сроки с 1-х по 4-е сутки культивирования и уменьшением ее количества к 5-м суткам.

The most common mycosis agents initiating tracheobronchial tree damage in posttraumatic period are *Candida* spp. including *C. albicans*. Their pathogenicity is associated with biofilm formation.

The aim of the study is the investigation of biofilm forming ability in static conditions of *C. albicans* clinical strains cultivation isolated from tracheal aspirates of patients with pulmonary complications in acute and early periods of traumatic disease of the spinal cord.

Materials and methods. 10 clinical strains of *C. albicans* were included into the study. Reference strains of *C. albicans* ATCC 885-653 comprised the comparison group. Biofilm formation by reference and clinical microorganism strains was estimated by their binding value of crystal violet in sterile flat-bottom cultural-based polystyrene plates.

Results of the study have showed that in the process of cultivating the biofilm formed by *C. albicans* clinical strains microbial biomass has multiplied on 2 day by 9.5 ($p < 0.05$), 3 day by 41.5 ($p < 0.05$), and on 4 day by 63.4 ($p < 0.05$). On 5 day biomass decrease has been detected but it surpassed control values by 36.1 ($p < 0.05$). In the process of cultivating the biofilm formed by *C. albicans* reference strains microbial biomass has multiplied on 2 day by 6.3 ($p < 0.05$), 3 day by 38.6 ($p < 0.05$), 4 day by 59.1 ($p < 0.05$). On 5 day the biomass tended to decrease but it surpassed control values by 31.4 ($p < 0.05$).

Conclusion. Life cycle of biofilms formed by clinical and reference strains of *C. albicans* is described in terms of sequential increase of microbial biomass growth in the period from 1 to 4 cultivation day and its decrease by 5 day.

ОСОБЕННОСТИ КОЛОНИЗАЦИИ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА

Филоненко Г.В., Саламанина А.А., Кирик Д.Л.

Научно-практический медицинский центр детской кардиологии и кардиохирургии, Киев, Украина

PECULIARITIES OF THE COLONIZATION OF THE UPPER RESPIRATORY TRACT IN INFANTS WITH CONGENITAL HEART DISEASE

Filonenko G.V., Salamanina A.A., Kyryk D.L.

The scientific-practical children's cardiac center, Kiev, Ukraine

По мере прогрессирования детской кардиохирургии всё прочнее утверждается стратегия максимально ранней коррекции врожденного порока сердца (ВПС). В этой связи для кардиоанестезиологии приобретают актуальность не только вопросы, собственно обусловленные наличием ВПС, но и проблемы, связанные с особенностями периода новорожденности и раннего детского возраста. К моменту поступления в специализированный кардиохирургический центр пациенты первого года жизни часто имеют, в лучшем случае, дисбиоз кишечника, а в худшем – колонизацию патогенными микроорганизмами с множественной антибиотикорезистентностью.

Кардиохирургических пациентов лечат инвазивными методами, которые поддерживают их жизненные функции, но, в то же время, увеличивают риск развития инфекции. На частоту инфицирования детей первого года жизни влияет интубация и механическая вентиляция легких. Интубационная трубка быстро колонизируется микробиотой горла пациента, микробиотой больничной среды или передается через руки медперсонала.

Цель исследования – выявить особенности колонизации верх-

них дыхательных путей микробиотой у детей первого года жизни, прооперированных в научно-практическом медицинском центре детской кардиологии и кардиохирургии за период 2013-2014 гг.

Материал и методы. Провели микробиологические исследования различных видов клинического материала от детей первого года жизни, прооперированных по поводу врожденных пороков сердца. Клиническим материалом служили слизистые оболочки зева и носа, интубационная трубка. Идентификацию выделенных культур и определение чувствительности к антибиотикам проводили на анализаторе VITEC2 COMPACT. Данные обрабатывали с помощью программы WHONET 5.6.

Результаты. За анализируемый период было проведено 1681 исследование от 513 детей. Положительный результат получен в 1166 образцах (69,4%). Условно-патогенную биоту выделяли, в основном, со слизистой оболочки зева – 48,5%, слизистой оболочки носа – 41,8%, с интубационных трубок – 9,7%. Ведущими возбудителями были представители рода *Staphylococcus* spp. (49,6%), *Streptococcus* spp. (6,7%), *Enterococcus* spp. (5,1%), *Candida* spp. (7,1%), представители семейства *Enterobacteriaceae* spp. (15,3%); неферментирующие микроорганизмы выделяли в 16,5% случаев, из них: *Pseudomonas aeruginosa* (4,2%), *Stenotrophomonas maltophilia* (3,7%), *Acinetobacter baumannii* (7,2%), редко встречающаяся *Shingomonas paucimobilis* (0,2%), *Chryseobacterium indologenes* (0,8%), *Brevundimonas diminuta* (0,2%). Из рода *Staphylococcus* в клиническом материале преобладали *S. epidermidis* – 20,3%, *S. aureus* – 18,5%, *S. haemolyticus* – 10,8%. Из семейства *Enterobacteriaceae* доминировали *Klebsiella pneumoniae* – 8,0%, *Enterobacter cloacae* – 3,4%, *Escherichia coli* – 2,8%.

Основным возбудителем грибковой инфекции была *Candida albicans* (5,8%), а также *C. krusei* (0,4%), *C. parapsilosis* (0,5%), в единичных случаях – *C. kefyr* и *Cryptococcus laurentii*.

Популяции стафилококков были представлены штаммами, не однородными по отношению к антимикробным препаратам (АМП). Было выделено 9,8% MRSA и 72,2% MRSE. Более высокий уровень и множественный характер резистентности к АМП имели *Stenotrophomonas maltophilia* и *Acinetobacter baumannii*, которые колонизировали верхние дыхательные пути детей первого года жизни, что опосредованно указывало на их госпитальное происхождение.

Выводы. С помощью эффективного мониторинга микробного пейзажа можно своевременно получить сведения о динамике микробиоты и наличии госпитальных штаммов в кардиохирургическом стационаре, что позволит своевременно провести необходимые мероприятия для предотвращения осложнения эпидемической ситуации, снизить уровень гнойно-септических осложнений у кардиохирургических пациентов.

With the progress of pediatric cardiac surgery strategy earliest possible correction of congenital heart disease (CHD) was firmly established. In this regard, not only questions of CHD itself, but also problems associated with the peculiarities of the neonatal period and early childhood became relevant for cardiac anesthesiology.

At the time of admission to a specialized cardiac surgery center patients infants are often have at best, intestinal dysbiosis, and at worst – the colonization of pathogens with multiple antibiotic resistance. Cardiac patients are treated with invasive techniques that support their life functions, but at the same time increase the risk of infections. The incidence of infection in infants is affected by intubation and mechanical ventilation. Endotracheal tube is quickly colonized by patient's throat microbiota and microbiota of hospital environment is passed through the hands of the medical staff.

Purpose – to find peculiarities of the colonization of the upper respiratory tract by microbiota in infants who underwent surgery in the Scientific-practical children's cardiac center during the period of 2013-2014.

Methods. We conducted microbiological studies of different types of clinical material from infants, operated on for congenital heart disease. Oral and nasal swabs, endotracheal tubes served as clinical material. Identification of isolated cultures and antibiotic susceptibility was performed on the VITEC2 COMPACT analyzer. The data were processed using WHONET 5.6.

Results. During the reviewed period 1681 studies in 513 children were conducted. A positive result was obtained in 1166 samples (69,4%). Opportunistic biota was isolated from oral mucosa – 48,5%, nasal mucosa – 41,8% and endotracheal tubes – 9,7%. Leading pathogens were members of the genus *Staphylococcus* spp. (49,6%), *Streptococcus* spp. (6,7%), *Enterococcus* spp. (5,1%), *Candida* spp. (7,1%), members

of the family *Entebacteriaceae* spp. (15,3%); non-fermentative bacteria were isolated in 16,5% of cases, including: *Pseudomonas aeruginosa* (4,2%), *Stenotrophomonas maltophilia* (3,7%), *Acinetobacter baumannii* (7,2%), rare *Sphingomonas paucimobilis* (0,2%), *Chryseobacterium indologenes* (0,8%), *Brevundimonas diminuta* (0,2%). From the genus *Staphylococcus* prevailing in the clinical material were *S. epidermidis* – 20,3%, *S. aureus* – 18,5%, *S. haemolyticus* – 10,8%. From the family *Entobacteriaceae* dominated *Klebsiella pneumoniae* – 8,0%, *Enterobacter cloacae* – 3,4%, *Escherichia coli* – 2,8%.

The main causative agent of fungal infection was *Candida albicans* (5,8%), as well as *C. krusei* (0,4%), *C. parapsilosis* (0,5%), and in rare cases – *C. kefyr* and *Cryptococcus laurentii*.

Population staphylococci were presented by strains, not homogeneous with respect to antimicrobial agents. We isolated 9,8% MRSA and 72,2% MRSE. Higher level and incidence of multiple resistances to antimicrobials of *Stenotrophomonas maltophilia* and *Acinetobacter baumannii* colonizing the upper respiratory tract of infants indirectly indicates their hospital origin.

Conclusions. With the help of effective microbial landscape monitoring information about the dynamics of the microbiota and the presence of hospital strains in cardiac surgery hospital can be timely obtained. This will allow performing the necessary measures to prevent the complications of the epidemiological situation and reduce septic complications in patients undergoing cardiac surgery.

ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БИОПЛЕНК ШТАММОВ *CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE GRAVIS TOX+*

Фролова Я.Н.¹, Харсеева Г.Г.¹, Герасимов В.Н.², Котов С.А.², Гасретова Т.Д.¹

¹Ростовский государственный медицинский университет, МЗ РФ, Ростов-на-Дону; ²Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, Оболенск, Россия

ELECTRON MICROSCOPIC STUDY OF BIOFILMS BY *CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE GRAVIS TOX+* STRAINS

Frolova J.N.¹, Kharseeva G.G.¹, Gerasimov V.N.², Kotov S.A.², Gasretova T.D.¹

¹Rostov state medical university, Rostov-on-Don; ²State scientific center of applied microbiology and biotechnology of Federal Service on Surveillance for Consumer rights protection and human well-being, Obolensk, Russia

Цель – изучение структуры однородных микробных сообществ штаммов *Corynebacterium diphtheriae gravis tox+* при формировании биопленок *in vitro*.

Материалы и методы. Объект исследования – типовая и биопленочные (120- и 720-часовые) культуры штаммов *C. diphtheriae gravis tox* № 665 и *C. diphtheriae gravis tox* (циркулирующий). Тестирование штаммов на способность формировать биопленки проводили по методике Р. Л. Watnick e. a. (1999). Полученные образцы биопленочных культур исследовали в сканирующем электронном микроскопе S-450 (фирма «Hitachi», Япония) при ускоряющем напряжении 30 кВ.

Результаты. Возбудитель дифтерии обладает способностью к формированию матрикса. Пик образования матрикса музейным штаммом приходился на 120 час культивирования, циркулирующего – 720 час. При анализе изменений размеров бактериальных клеток исследованных штаммов *C. diphtheriae* при формировании биопленки была установлена их обратная корреляция с интенсивностью образования матрикса. При максимальном содержании матрикса наблюдали уменьшение размеров клеток коринебактерий.

Заключение. *C. diphtheriae* обладает способностью к формированию биопленки, что подтверждено нарастанием значений матрикса с 48 по 720-й час культивирования. Клетки двух исследованных штаммов коринебактерий в составе биопленки, в сравнении с планктонными культурами, при сканирующей электронной микроскопии обладали меньшими размерами, располагались в виде плотно сцепленных кластеров, покрытых общим матриксом, свободное пространство которого заполнено каналами. Закономерности динамики образования матрикса отражают, по нашему мнению, адаптивные

возможности возбудителя.

БАКТЕРИАЛЬНО-ГРИБКОВЫЕ АССОЦИАЦИИ В ЖИЛЫХ ПОМЕЩЕНИЯХ С ОЧАГАМИ БИОДЕСТРУКЦИИ

Халдеева Е.В., Лисовская С.А., Глушко Н.И., Паршаков В.Р.

Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии, Казань, РТ, Россия

ASSOCIATIONS OF FUNGI AND BACTERIA IN DWELLING LODGINS WITH BIODAMAGES

Khaldeeva E.V., Glushko N.I., Lisovskaya S.A., Parshakov V.R.

Kazan research institute of epidemiology and microbiology, Kazan, Russia

Микроскопические грибы, совместно с бактериями, активно заселяют среду обитания, создаваемую человеком, в том числе – жилые помещения. При этом данные микроорганизмы способны не только вызывать деструкцию различных материалов, но и могут представлять потенциальную угрозу здоровью людей. Формирование комплексов грибов с бактериями может приводить к синергичному действию на организм человека.

Цель работы – оценить качественный состав бактериально-грибковых ассоциаций в жилых помещениях с очагами биодеструкции.

Материалы и методы. Обследовано 20 жилых помещений с очагами грибковой биодеструкции, расположенных в различных районах г. Казани, в домах постройки 1950-1990 гг. Среди обследованных квартир 40% находились на верхних, 30% – на средних и 30% – на первых этажах зданий. Причинами возникновения очагов биодеструкции были: затопление (60%), выпадение конденсата вследствие нарушения теплоизоляции стен (30%) и наличие замачивания от уровня грунта (10%).

Результаты. В очагах биодеструкции отмечали как преимущественно грибковые консорциумы (52%), так и бактериально-грибковые (41,2%) ассоциации. В 7 пробах грибы, чаще всего – *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* и *Penicillium* spp., были выявлены в монокультуре. При этом всего в 102 пробах был выделен 31 вид из 17 родов микроскопических грибов. Ассоциации грибов и бактерий чаще наблюдали в помещениях с повышенным уровнем влажности, особенно – при наличии систематического замачивания. В 64,3% случаев обнаружили повышенное (более 10⁴ КОЕ/дм²) обсеменение *Micrococcus* spp. *Pseudomonas* spp. и *Bacillus* spp. Видовой состав микромицетов в ассоциациях был представлен преимущественно *A. niger*, *A. terreus*, *T. viride*, *Penicillium* spp. В единичных случаях отмечали присутствие в ассоциациях *A. flavus*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Candida* spp., *Chaetomium* spp., *Acremonium* spp. и *Acremonium* spp. Всего в ассоциациях было выявлено 17 видов из 10 родов микромицетов. Отметим, что чаще всего при повышенном уровне обсеменения бактериями имел место слабый и умеренный рост грибов.

Заключение. Бактериально-грибковые ассоциации характеризуются меньшим видовым разнообразием и количеством микромицетов, что требуют особого подхода при подборе средств биоцидной обработки.

Microscopic fungi, together with the bacteria actively colonize the habitat created by man, including - residential premises. In this case, these microorganisms can not only cause the destruction of a variety of materials, but can pose a potential threat to human health. Formation of complexes of fungi and bacteria can lead to a synergistic effect on the human body.

Purpose - to assess the qualitative composition of bacterial and fungal associations in a residential area with sites of biodegradation.

Materials and methods. A total of 20 dwellings with biodamages, located in different areas of the city of Kazan, in houses built in 1950-1990 were surveyed. Among the surveyed apartments 40% were on the top, 30% - on average and 30% - on the first floor. Causes of biodamages were flooding (60%), condensation due to problems with the thermal insulation of walls (30%) and the presence of soaking the ground level (10%).

Results. In points of biodegradation as predominantly fungal consortia (52%) as bacterial and fungal (41.2%) association were revealed. In 7 dwellings fungi, mainly - *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* and *Penicillium* spp., were found as a monoculture. Total 31 species of 17 genera of microscopic fungi from 102 samples were isolated. Association

of fungi and bacteria were observed in areas with high humidity levels - especially in the presence of systematic soaking. In 64.3% of cases high level (greater than 10^4 CFU/dm²) of *Micrococcus* spp., *Pseudomonas* spp. and *Bacillus* spp. were found. Qualitative composition of micromycetes in associations was represented mainly by *A. niger*, *A. terreus*, *T. viride*, *Penicillium* spp. In a few cases the associations of *A. flavus*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Candida* spp., *Chaetomium* spp., *Acremonium* spp. and *Acremonium* spp. have been detected. Totally 17 species from 10 fungal genera were identified in associations. It was noted, that high levels of bacteria contamination occurred when growth of fungi was weak and moderate.

Conclusion. Bacterial and fungal associations are characterized by lower species diversity and number of micromycetes that require a special approach to select biocide treatment.

ФЕНОМЕН БАКТЕРИОНОСИТЕЛЬСТВА ЗОЛОТИСТОГО СТАФИЛОКОККА СРЕДИ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ И СТУДЕНТОВ МЕДИЦИНСКИХ СПЕЦИАЛЬНОСТЕЙ

Хараева З.Ф.

Кабардино-Балкарский государственный университет им.Х.М. Бербекова, Россия

THE PHENOMENON OF BACTERIA CARRIAGE OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS AMONG MEDICAL WORKERS AND MEDICAL STUDENTS

Kharaeva Z. F.

H.M. Berberov's Kabardino-Balkarian state University, Russia

Бактерионосители – источники инфекции для окружающих людей и, в то же время, в случае, если ими являются медицинские работники, то именно они служат основным источником госпитальных инфекций.

Цель работы – проведение обследования на бактерионосительство золотистого стафилококка медицинских работников и студентов медицинского факультета Кабардино-Балкарского государственного университета им.Х.М. Бербекова.

Материалы и методы. Обследовано 52 медицинских работника, 87 студентов медицинского факультета. Материал из полости носа и зева забирался стерильными ватными тампонами, посев осуществляли на желточно-солевой агар методом Линдее. Идентификацию выделенных культур проводили по биохимическим и культуральным признакам. Антибиотикоустойчивость изолированных штаммов определяли диско-диффузионным методом. Для оценки эффективности методов неантибактериальной терапии отдельным группам лиц было проведено кварцевание (10 процедур в стандартном режиме) и бактериофаготерапия (Биомед, Пермь, Россия). Спустя 2 недели осуществляли повторное бактериологическое обследование выявленных и прочеченных бактерионосителей. Достоверность полученных результатов оценивали с помощью критерия Стьюдента.

Результаты. В группе медицинских работников в полости носа и зева стафилококки обнаружили в 70-90%, в зависимости от профессиональной группы. Штаммы *Staphylococcus aureus* у санитаров выявляли в 70-75% случаев, у медсестер – в 70-80% и у врачей – в 80-90%. В группе студентов медицинского факультета проценты выявленных носителей были достоверно ниже – от 55-75%, но, в целом, сохранялась высокая антигенная нагрузка. Выделенные культуры стафилококков проявляли резистентность к эритромицину и тетрациклину. Оксациллин-резистентность наблюдали у 9,1% культур, к ванкомицину все культуры были чувствительны. Для сравнительной оценки эффективности уничтожения штаммов золотистого стафилококка кварцеванием или бактериофагом было проведено повторное исследование выявленных носителей. Обнаружили, что курс кварцевания был эффективен в 65% случаев, бактериофаготерапия – в 75%.

Заключение. В группе медицинских работников и студентов медицинских факультетов обнаружили высокий процент бактерионосителей золотистого стафилококка. Для уничтожения условно-патогенной микробиоты можно рекомендовать бактериофаготерапию и курс кварцевания.

Bacteria carriers – are sources of infection to other persons and, at the same time, if they are medical professionals, they serve as the main source of hospital infections.

The aim - to conduct a survey on bacterial carriage of *Staphylococcus aureus* among medical workers and medical students of the Kabardino-Balkarian State University.

Materials and methods. Were examined 52 medical workers, 87 students of the medical faculty. Material from the nasal cavity and pharynx were taken with sterile cotton, sowing was carried out on egg-yolk salt agar by the method of Lincei. Identification of the selected species was carried out by biochemical and cultural characteristics. Antibiotic sensitivity of isolated strains was determined by disk diffusion method. To assess the effectiveness of the methods antibacterial of treatment of certain groups of individuals was conducted by the quartz treatment (10 treatments in standard mode) and bacteriophage therapy (Biomed, Perm, Russia). 2 weeks later was carried out by repeated bacteriological examination identified and treated bacteria carriers. The accuracy of the results was assessed using Student's criterion.

Results. In the group of health workers in the nasal cavity and throat staphylococci found in 70-90%, depending on the professional group. Strains of *Staphylococcus aureus* among nurses was found in 70-75% of cases, nurses - in 70-80% and doctors - in 80-90%. In the group of medical students, the percent of identified carriers were significantly lower from 55-75%, but, overall, have maintained a high antigenic load. Isolated cultures of staphylococci showed resistance to erythromycin and tetracycline. Oxacillin resistance was observed in 9.1% of cultures - all cultures vancomycin were sensitive. For comparative evaluation of efficiency of destruction of *S. aureus* strains by quartz or bacteriophage repeat examination was conducted of the identified media. Found that the rate of quartz treatment was effective in 65% of cases, bacteriophage therapy is 75%.

Thus, in the group of medical workers and medical students we have found a high percentage of *Staphylococcus aureus* carriers. Bacteriophage therapy course and UF-radiation treatment can be recommended for the evaluation of pathogenic microorganisms.

ИММУНОГЕНЕЗ У БОЛЬНЫХ С ЗООАНТРОПОНОЗНОЙ ТРИХОФИТИЕЙ

Хисматуллина З.Р., Мухамадеева О.Р., Даниленко Р.У., Глимнурова Л.М., Дорожкин Л.А.

Башкирский государственный медицинский университет, ГАУЗ РКВД, Уфа, Россия

IMMUNOGENESIS AT PATIENTS WITH ZOOANTHROPONOTIC TRICHOPHYTOSIS

Hismatullina Z.R., Muhamadeeva O.R., Danilenko R.U., Glimnurova L.M., Dorogko L.A.

Bashkir State Medical University, GAUZ RKVD, Ufa, Russia

Цель исследования – изучение интенсивности иммунного ответа организма на возбудитель у пациентов с различными формами зооантропонозной трихофитии.

Материалы и методы. Обследованы 28 детей с различными формами зооантропонозной трихофитии в возрасте от 6 до 18 лет. При проведении иммунологических реакций бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) и пассивной гемагглютинации (РПГА) у больных использовали образцы венозной гепаринизированной крови и сыворотки крови больных.

Результаты. Выявили различия в интенсивности иммунной реакции у пациентов с инфильтративными и нагноительными формами зооантропонозной трихофитии, которые были связаны с формированием у больных этих клинических форм трихофитии, а не с видом гриба-возбудителя. В частности, при нагноительной трихофитии, в сравнении с инфильтративной формой, вне зависимости от вида возбудителя, у детей отмечали более выраженные показатели гуморального и клеточного иммунного ответов. Достоверных различий в группах с разными возбудителями не наблюдали, хотя и имела место тенденция при трихофитии, вызванной *Trichophyton mentagrophytes* var. *gypseum*, к большей реактивности клеток нейтрофильного звена и стимуляции антителообразования, а при трихофитии, обусловленной *Trichophyton verrucosum*, – «клеточно-опосредованного» иммунного ответа.

Заключение. Полученными результатами доказана необходимость комплексного подхода к лечению различных форм зооантропонозной трихофитии с использованием адекватных иммуномодулирующих средств.

The aim of the study was to examine the intensity of the immune

response of the organism to the pathogen in patients with various forms of zoonoantronic trichophytosis.

Materials and methods. We examined 28 children with various forms of zoonoantronic trichophytosis in age from 6 to 18 years. Samples of venous heparinized blood and serum of patients were used for immunological reactions blast transformation of lymphocytes and passive hemagglutination.

Results. We revealed differences in the immune response intensity in patients with infiltrative and purulent forms of zoonoantronic trichophytosis which were associated with the formation in patients of these clinical forms of trichophytosis, but not with a view of the fungus. In particular, there were more significant humoral and cellular immune responses in children with purulent trichophytosis compared with infiltrative forms, regardless of the type of agent. Significant differences in groups with different agents were not observed, although there was a trend in cases of trichophytosis caused by *Trichophyton mentagrophytes* var. *gypseum*, to greater reactivity of neutrophilic cells and stimulation of antibody level, and in cases of trichophytosis caused by *Trichophyton verrucosum* there was "cell-mediated" immune response.

Conclusion. There was proved the necessity of complex approach to the treatment of various forms of zoonoantronic trichophytosis using adequate immunomodulatory agents.

ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ МИКОЗОВ, ОБУСЛОВЛЕННЫХ РЕДКИМИ ДРОЖЖЕПОДОБНЫМИ ГРИБАМИ, В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

¹Хостелиди С.Н., ¹Богомолова Т.С., ²Попова М.О., ²Волкова А.Г., ³Колбин А.С., ⁴Сатурнов А.В., ⁵Белогурова М.Б., ²Зубаровская Л.С., ²Афанасьев Б.В., ¹Васильева Н.В., ¹Климко Н.Н.

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина; ²Институт детской гематологии и трансплантологии им. Р.М.Горбачевой, Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. ак. И.П.Павлова; ³Детская городская больница №1, ⁴Ленинградская областная клиническая больница; ⁵Городская больница №31, Санкт-Петербург, Россия

DIAGNOSIS AND TREATMENT OF FUNGAL INFECTIONS DUE TO RARE YEAST-LIKE FUNGI IN ST. PETERSBURG

¹Khostelidi S.N., ¹Bogomolova T.S., ²Popova M.O., ²Volkova A.G., ³Kolbin A. S., ⁴Saturnov A.V., ⁵Belogurova M.B., ²Zubarovskaya L.S., ²Afanasyev B.V., ¹Vasilyeva N.V., ¹Klimko N.N.

¹North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, Kashkin Research Institute of Medical Mycology; ²R.M. Gorbacheva Institute of Hematology and Transplantation; ³I. P. Pavlov St. Petersburg State Medical University; Children's City Hospital №1, Leningrad regional Clinical Hospital; City Hospital №31, St. Petersburg, Russia

Инвазивные микозы, обусловленные редкими дрожжеподобными грибами, – тяжелые оппортунистические инфекции с высокой летальностью. Публикации о данной патологии единичны.

Цель работы – анализ демографических показателей, фоновых заболеваний, этиологии, диагностики и антимикотической терапии больных инвазивными микозами, обусловленными редкими дрожжеподобными микромицетами.

Материалы и методы. Провели проспективное исследование в период 1998-2013 гг. Для постановки диагноза инвазивных микозов использовали критерии EORTC/MSG, 2008.

Результаты. Обследовали 35 больных из 12 стационаров Санкт-Петербурга в возрасте от 1 до 60 лет (медиана – 18 лет), детей – 43%. Соотношение по полу 2:1 (мужчин – 69%, женщин – 31%).

Основные фоновые заболевания или состояния: гемобластозы – 34%, хирургические вмешательства – 27%, злокачественные новообразования – 18%, СПИД – 12%, травмы/ожоги – 9%.

Основными факторами риска были: длительное пребывание в ОРИТ (90%), применение ЦВК более 14 дней (90%) и агранулоцитоз (50%). Микоз протекал преимущественно как фунгемия (79%), а также как поражение ЦНС (18%) и кожи (3%).

Диагноз устанавливали на основании выделения возбудителя при посеве крови – у 77%, СМЖ – у 14%, биоптатов тканей – у 9%

(у 2 пациентов возбудителей выявляли из крови и биоптатов тканей). При прямой микроскопии БАЛ, ликвора, биоптатов и/или биопленки катетеров дрожжеподобные клетки и/или псевдомицелий отмечали у 20% больных. Возбудителями микозов были: *Rodotorula* spp. (37%), *Trichosporon* spp. (20%), *Trichosporon asahii* (14%), *Malassesia* spp. (9%), *Rhodotorula mucilaginosa* (6%), *Geotrichum capitatum* (6%), *Geotrichum* sp. (3%), *Saccharomyces* sp. (3%) и *Debaryomyces* sp. (3%).

У 7% больных диагноз был установлен посмертно, остальные пациенты получали антимикотики: флуконазол (43%), вориконазол (29%), амфотерицин В деоксихолат (14%) и каспифунгин (14%). Продолжительность антимикотической терапии составила от 3 до 98 дней (медиана – 23 дня). Общая выживаемость больных в течение 30 дней составила 81%.

Выводы. 1) Инвазивные микозы, обусловленные редкими дрожжеподобными микромицетами, развиваются преимущественно у гематологических пациентов (34%), а также хирургических (27%) и онкологических (18%) больных. 2) Основные факторы риска: длительное пребывание в ОРИТ (90%), применение ЦВК более 14 дней (90%) и агранулоцитоз (50%). 3) Основные возбудители – *Rodotorula* spp. (37%) и *Trichosporon* spp. (34%). 4) В большинстве случаев развивается фунгемия (79%), реже – поражение ЦНС (18%) и кожи (3%). 5) Общая 30 дневная выживаемость составила 81%.

Invasive mycosis caused by rare Yeast-like Fungi are a severe opportunistic infection with high mortality. Publications about invasive fungal infections caused by rare Yeast-like Fungi are limited.

The aim: analyzed the demographic parameters, risk factors, aetiology, results of treatment of invasive fungal infections caused by rare Yeast-like Fungi in St. Petersburg, Russia.

Methods. The prospective study during 1999-2013. The diagnosis of mycosis was made according to EORTC/MSG criteria (2008).

Results. We observed 35 patients in 12 hospital in Saint-Petersburg. The median age of patients was 18 years (range 1-60), children – 43%. Male and female ratio 2:1 (male – 69%, female – 31%).

Main underlying diseases were hemablastosis – 34%, surgery 27%, solid malignancy – 18%, AIDS – 12%, trauma/burns – 9%. The main risk factors were: prolonged stay in the ICU (90%), used of a central venous catheter for more than 14 days (90%) and neutropenia (50%).

Main clinical forms were: fungemia (79%), CNS (18%), and subcutaneous (3%). Diagnosis was established by positive result of culture in blood (77%), cerebrospinal fluid -14%, tissue biopsy – 9%. By Direct microscopy and histology of BAL, CSF, and other samples were positive in 20% of patients.

In all cases the diagnosis was confirmed by culture. Aetiological agents included: *Rodotorula* spp. (37%), *Trichosporon* spp. (20%), *Trichosporon asahii* (14%), *Malassesia* spp. (9%), *Rhodotorula mucilaginosa* (6%), *Geotrichum capitatum* (6%), *Geotrichum* sp. (3%), *Saccharomyces* sp. (3%) and *Debaryomyces* sp. (3%).

Antifungal therapy was performed in 93% patients (7% cases were diagnosed post-mortem). Fluconazole was used in 43% patients, Voriconazole - 29%, amphotericin B deoxycholate - 14%, caspofungin - 14%. Duration of antimycotic therapy was 3 - 98 days (median 23 days). 30 days overall survival was 81%.

Conclusions. 1) The main underlying diseases in patients with invasive fungal infections caused by rare Yeast-like Fungi were hemablastosis (34%) surgery (27%), solid malignancy (18%). 2) The main risk factors were: prolonged stay in the ICU (90%), central venous catheter (90%) and neutropenia (50%). 3) The main pathogens: *Rodotorula* spp. (37%), *Trichosporon* spp. (34%). 4) The main clinical forms were: fungemia (79%), CNS (18%), and subcutaneous (3%). 5) 30 days overall survival was 81%.

ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ИНВАЗИВНЫХ МИКОЗОВ, ОБУСЛОВЛЕННЫХ РЕДКИМИ ПЛЕСНЕВЫМИ МИКРОМИЦЕТАМИ, В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

¹Хостелиди С.Н., ¹Борзова Ю.В., ¹Шадринова О.В., ¹Шагдилеева Е.В., ²Попова М.О., ²Волкова А.Г., ¹Богомолова Т.С., ³Зюзгин И.С., ⁴Белогурова М.Б., ²Колбин А.С., ²Зубаровская Л.С., ²Афанасьев Б.В., ¹Васильева Н.В., ¹Климко Н.Н.

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина; ² Институт детской гематологии и трансплантологии им. Р.М.Горбачевой, Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. ака. И.П.Павлова; ³ Ленинградская областная клиническая больница; ⁴Городская больница №31, Санкт-Петербург, Россия

DIAGNOSIS AND TREATMENT OF INVASIVE FUNGAL INFECTIONS DUE TO RARE MICROMYCETES IN ST. PETERSBURG

¹Khostelidi S.N., ¹Borzova Yu.V., ¹Shadrivova O.V., ¹Shagdileeva E.V., ²Popova M.O., ²Volkova A.G., ¹Bogomolova T.S., ³Zuzgin I.S., ⁴Belogurova M.B., ²Kolbin A.S., ²Zubarovskaya L.S., ²Afanasyev B.V., ¹Vasilyeva N.V., ¹Klimko N.N.

¹North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, Kashkin Research Institute of Medical Mycology; ²R.M. Gorbacheva Institute of Hematology and Transplantation; ³ I. P. Pavlov St. Petersburg State Medical University; Children's City Hospital №1, Leningrad regional Clinical Hospital; City Hospital №31, St. Petersburg, Russia

Инвазивные микозы, обусловленные редкими плесневыми микромицетами, являются тяжелыми оппортунистическими заболеваниями с высокой летальностью. Публикации об этих микозах единичны.

Цель работы – анализ демографических показателей, фоновых заболеваний, этиологии, диагностики и антимикотической терапии больных микозами, обусловленными редкими плесневыми микромицетами.

Материалы и методы. Провели проспективное исследование в период 1999-2014 гг. Для постановки диагноза инвазивных микозов использовали критерии EORTC/MSG, 2008.

Результаты. Обследовали 66 больных из 14 стационаров Санкт-Петербурга в возрасте от 1 до 69 лет (медиана – 33,5 лет). Соотношение по полу 2:1 (мужчин – 66,6%, женщин – 33,3%).

В структуре фоновых заболеваний преобладали гемобластозы – 75% (острый миелоидный лейкоз – 34%, острый лимфобластный лейкоз – 24%, неходжкинская лимфома – 12%, лимфома Ходжкина – 8%, хронический лимфолейкоз – 8%, хронический миелолейкоз – 4%, миелодиспластический синдром – 4%, недифференцированный острый лейкоз – 4% множественная миелома – 2%). Другими фоновыми состояниями были заболевания легких – 8%, злокачественные новообразования – 5%, СПИД – 5%, травмы/ожоги – 5%, заболевания соединительной ткани – 3% и трансплантация органов – 2%.

Основными факторами риска у наблюдаемых нами больных были: агранулоцитоз – 83%, применение системных глюкокортикостероидов – 50%, трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток – 25%, хирургические вмешательства – 10%. Преимущественно отмечали поражение легких (65%), диссеминированный микоз (18%), поражение придаточных пазух носа (12%), центральной нервной системы (3%) и кожи (3%).

При прямой микроскопии БАЛ, аспиринов из придаточных пазух носа и других биосубстратов наличие нитей делящегося под острым углом септированного мицелия выявляли у 41% больных. При гистологическом исследовании микромицеты визуализированы у 25% пациентов. У всех больных возбудители были выделены в культуру: *Paecilomyces* spp. (24%), *Fusarium* spp. (17%), *Acremonium* spp. (17%), *Trichoderma* spp. (11%), *Alternaria* spp. (9%), *Exophiala* spp. (7%), *Scopulariopsis* spp. (6%), *Aureobasidium pullulans* (6%), *Cladosporium* sp. (2%) и *Scedosporium* sp. (2%).

У 30% больных диагноз был установлен посмертно. Всем пациентам, у которых диагноз был установлен при жизни, проводили антимикотическую терапию: вориконазол (72%), амфотерицин В деоксиколат (22%), итраконазол (17%), каспифунгин (17%), амфотерици-

на В липидный комплекс (11%) и позаконазол (11%). 50% больных назначали комбинированную антимикотическую терапию. Хирургическое лечение применяли у 10% пациентов. Общая выживаемость больных в течение 12 недель составила 50%.

Выводы. 1) Инвазивные микозы, обусловленные редкими плесневыми микромицетами, развиваются преимущественно у гематологических больных (75%) на фоне постцитостатического агранулоцитоза, применения глюкокортикостероидов или трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. 2) Основные возбудители – *Paecilomyces* spp. (24%), *Fusarium* spp. (17%) и *Acremonium* spp. (17%). 3) Поражение легких выявили у 65% больных, поражение придаточных пазух носа – у 12%, диссеминированный микоз – у 18%. 4) При проведении антимикотической терапии и хирургического лечения общая выживаемость больных в течение 12-недель составила 50%.

Invasive fungal infections caused by rare molds micromycetes are a severe opportunistic infection with high mortality. Publications about invasive fungal infections caused by rare molds micromycetes are limited.

The aim: analyzed the demographic parameters, risk factors, aetiology, results of treatment of rare mold mycosis in St. Petersburg, Russia.

Methods. The prospective study during 1999-2014. The diagnosis of mycosis was made according to EORTC/MSG criteria (2008).

Results. We observed 66 patients in 14 hospitals in St. Petersburg. The median age of patients was 33,5 years (range 1-69), male and female ratio 2:1 (male – 66,6%, female – 33,3%).

Main underlying diseases were hemablastosis – 75% (AML – 34%, ALL – 24%, AL – 4%, Non-Hodgkin's lymphoma – 12%, Hodgkin's lymphoma – 8%, ChLL – 8%, ChML – 8%, MDS – 4%, Multiple myeloma – 4%). Other underlying diseases were: COPD – 8%, solid malignancy – 5%, AIDS – 5%, trauma/burns – 5%, autoimmune diseases – 3%, organ transplantation – 2%.

The main risk factors were: agranulocytosis – 83%, corticosteroids – 50%, allogeneic hematopoietic stem cells transplantations – 25%, surgery – 10%.

Main clinical forms were: pulmonary (65%), disseminated fungal infection (18%), sinusitis (12%), CNS (3%), and subcutaneous (3%). Diagnosis was established by histology 25% of patients. Direct microscopy of BAL, paranasal sinuses aspirates and other samples were positive in 41% of patients. In all cases the diagnosis was confirmed by culture. Aetiologic agents included: *Paecilomyces* spp. (24%), *Fusarium* spp. (17%), *Acremonium* spp. (17%), *Trichoderma* spp. (11%), *Alternaria* spp. (9%), *Exophiala* spp. (7%), *Scopulariopsis* spp. (6%), *Aureobasidium pullulans* (6%), *Cladosporium* sp. (2%) and *Scedosporium* sp. (2%).

Antifungal therapy was performed in 70% patients (30% cases were diagnosed post-mortem). Voriconazole was used in 72% patients, amphotericin B deoxycholate – 22%, itraconazole – 17%, caspofungin – 17%, amphotericin B lipid complex – 11% and posaconazole – 11%. Combination therapy was used in 50% patients. Surgical treatment – 10% of patients. Twelve weeks overall survival was 50%.

Conclusions. 1) Main underlying diseases in patients with invasive fungal infections caused by rare molds micromycetes were hemablastosis (75%) and main risk factors agranulocytosis, corticosteroids, allogeneic hematopoietic stem cells transplantations. 2) The main pathogens: *Paecilomyces* spp. (24%), *Fusarium* spp. (17%) and *Acremonium* spp. (17%). 3) Main clinical forms were: pulmonary (65%), disseminated fungal infection (18%), sinusitis (12%). 4) Twelve weeks overall survival was 50%.

АНТИЛИЗОЦИМНАЯ АКТИВНОСТЬ И СПОСОБНОСТЬ К БИОПЛЁНКООБРАЗОВАНИЮ *CANDIDA* SPP., ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ФЕКАЛИЙ У ДЕТЕЙ С РЕАКТИВНЫМ АРТРИТОМ

Челпаченко О.Е., Данилова Е.И., Федотова Л.П., Бондаренко Т.А., Сидорова О.И.

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

ANTILYSOZYME ACTIVITY AND BIOFILM FORMATION OF *CANDIDA* SPP. STRAINS ISOLATED FROM DEFECATIONS OF CHILDREN WITH REACTIVE ARTHRITIS

Chelpatchenko O.E., Danilova E.I., Fedotova L.P., Bondarenko T.A., Sidorova O.I.

Institute of cellular and intracellular symbiosis UD of RAS, Orenburg, Russia

Особое значение в этиопатогенезе реактивных артритов (РеА) принадлежит микробиому кишечника (Yeoh N.et al.,2013). Важную роль в развитии РеА играют биологические свойства микроорганизмов, в том числе – персистентный потенциал микробиоты кишечника.

Цель – определить антилизоцимную активность (АЛА) и способность к биоплёнкообразованию (БПО) штаммов *Candida* spp., выделенных из фекалий у детей с реактивным артритом.

Материалы и методы. Использовали 26 штаммов *Candida albicans*, выделенных у пациентов 4-16 лет с реактивным артритом, обследованных на дисбиоз кишечника. Биохимический профиль определяли с помощью коммерческой тест-системы «API20CAUX» («BioMérieux», Франция). АЛА дрожжевых грибов определяли фотометрическим методом по методике Бухарина О.В. с соавт. (1999), БПО – по методике O'Toole G. с соавт., (2000).

Результаты. *Candida* spp. выделены у 60±9,8% пациентов с реактивным артритом против 1,2% у здоровых детей. У больных реактивным артритом наблюдали тенденцию к повышению уровня антилизоцимной активности *Candida* spp., который был в пределах от 0,64 до 1,67 мкг/мл*ОП (среднее значение – 1,14±0,3мкг/мл*ОП), в то время как у здоровых детей показатели АЛА варьировали от 0,52 до 1,1 мкг/мл*ОП (в среднем, 0,72±0,15 мкг/мл*ОП), $p>0,05$. Способность к БПО оказалась достоверно выше у *Candida* spp., выделенных от детей с РеА (от 0,35 до 4,16 у.е., среднее значение – 1,33±0,2 у.е), $p<0,05$, в сравнении с уровнем данного показателя в группе здоровых детей (от 0,09 до 0,96 у.е., в среднем, 0,59±0,15 у.е).

Заключение. Установлено, что у детей с РеА чаще выявляют *Candida* spp., обладающие более высоким персистентным потенциалом (БПО и АЛА), что служит показателем возможного участия дрожжевых грибов в патогенезе реактивных артритов и необходимости соответствующей коррекции микробиоты кишечника у детей с РеА.

ХАРАКТЕР МИКРОБОЦЕНОЗА ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА У ЛИЦ С ПРЕДИАБЕТОМ

Червинец В.М., Червинец Ю.В., Беляева Е.А., Чаркова А.Р., Трошин А.В.

Тверская государственная медицинская академия МЗ России, Тверь, Россия

CHARACTER OF THE MICROBIOTA OF THE LARGE INTESTINE IN INDIVIDUALS WITH PREDIABETES

Chervinets V.M., Chervinets Y.V., Belyaeva E.A., Charkova A.R., Troshin A.V.

Tver State Medical Academy Ministry of health of Russia, Tver, Russia

Цель работы – определить характер микробиоценоза содержимого толстого кишечника у людей с преддиабетом.

Материал и методы. Уровень сахара образцов капиллярной крови осуществляли с помощью прибора MICROLET 2 «Вауег». Развернутый анализ кала на дисбиоз проводили бактериологическим методом согласно ОСТ 915000.11.0004-2003.

Контрольную группу в количестве 30 человек формировали на основе измерения уровня сахара в крови. Возраст составлял 19-21 год (юношей – 9 человек, девушек – 21). Отбирали студентов, у кото-

рых сахар в крови не превышал нормальные значения (5,5 ммоль/л).

В опытную группу 30 человек вошли студенты, у которых сахар в крови был 5,6-6,1 ммоль/л. Это считали предрасположенностью к сахарному диабету.

Результаты. У людей с нормальным уровнем сахара в крови (1 группа) энтерококки выделяли в 100% случаев, типичные *E. coli* – в 91,3%, бифидобактерии – в 86%, лактозонегативные *E. coli* – в 78,3%, лактобациллы – в 65,2%, клостридии – в 43,5%, золотистый стафилококк – в 26,1%, пептострептококки и эпидермальный стафилококк – в 17,4%, пептококки – в 13,1%, в 4,3% изолировали бактероиды, актиномицеты, плесневые грибы. Количество выделяемых микроорганизмов было разным. Бифидобактерии в нормальном количестве обнаруживали в 56,5% случаев, лактобациллы – в 60,9% проб фекалий, энтерококки – в 82,6% случаев, типичные эшерихии – в 73,9% проб кала. Количество пептококков, пептострептококков, золотистого стафилококка, эпидермального стафилококка, актиномицет также превышали нормальные значения.

В опытной группе с преддиабетом нормобиота была представлена следующими бактериями: энтерококки – в 95% проб фекалий, бифидобактерии – в 90%, типичные *E. coli* – в 80%, эпидермальные и сапрофитные стафилококки – в 55%, лактобациллы – в 40%, пептококки и пептострептококки – в 15 и 10% соответственно, бактероиды – в 5%. В то же время, условно-патогенную, факультативную микробиоту изолировали в большем проценте случаев. Так, клостридии наблюдали в 60% случаев, лактозонегативные эшерихии – в 55%, золотистые стафилококки – в 25%, стрептобациллы – в 20%, *Candida albicans* – в 10%. Бифидобактерии в нормальном количестве отмечали только в 20% проб кала, а в 70% – выше нормы на 1-2 порядка логарифма. Лактобациллы в нормальном количестве выделяли в 25% положительных изолятов, в 10% – превышали норму на 3 порядка, а в 5% – меньше нормы на 1 порядок. Количество *E. coli* в норме было 60%, выше нормы – 15%, ниже – в 5%. Количество пептококков и стрептококков было выше нормы на 1-2 порядка. На фоне измененного количественного содержания нормобиоты отмечали повышение количества условно-патогенной микробиоты. Так, количество всех выделенных клостридий превышало нормальное на 4-6 порядка, количество *lac*- эшерихий – на 2-4 порядка, золотистого стафилококка – на 4-6 порядков, *C. albicans* – на 6 порядков, стрептобацилл – на 4-6 порядков.

Заключение. Состояние микробиоты кишечника здоровых людей в возрасте 18-22 года можно характеризовать как нормобиоценоз и дисбиоз 1 степени. У лиц с предрасположенностью к сахарному диабету наблюдали изменение качественного и количественного соотношения микробиоты, характеризующееся как дисбиоз 1-2 степени, за счет повышения содержания условно-патогенной микробиоты на фоне снижения уровня лактобацилл.

АКТУАЛЬНОСТЬ РАННЕГО ВЫЯВЛЕНИЯ СЕЛЕКТИВНОГО ДЕФИЦИТА ИММУНОГЛОБУЛИНОВ КЛАССА М (ОБЗОР)

Черкасова Л.В., Бурханов Р.А.

Филиал ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве» в Северном административном округе г. Москвы, Россия

THE ACTIVITY OF EARLY DETECTION OF SELECTIVE DEFICIENCY OF IMMUNOGLOBULIN M (REVIEW)

Cherkasova L.V., Burkhanov R.A.

Filial of FBUZ «Center of Hygiene and Epidemiology in Moscow» in Northern administrative district of Moscow, Russia

Иммуноглобулины класса М (IgM) выполняют важную роль гуморальной защиты организма от микроорганизмов. IgM, связываясь с инфекционным агентом, активируют комплемент и фагоцитарную активность макрофагов, способствуют адекватной продукции иммуноглобулинов класса G. (Ройт А., 1999). Установлено, что IgM преимущественно защищают организм от грамотрицательных и капсульных микроорганизмов, пневмококков и аспергиллов (Hong R., Gupta S., 1999), препятствуют колонизации верхних дыхательных путей возбудителями респираторных инфекций и гемофильной палочкой (Micol R., 2012). При дефиците IgM создаются благоприятные условия для распространения инфекции через кровоток и транзит ее в органы и ткани, например, как при септическом стрептококковом артрите, эндокардите, нефрите. При уровне IgM в крови менее 0,5 г/л

существует потенциальная опасность развития сепсиса, иммунодефицитных состояний, бронхиальной астмы, лимфопролиферативных заболеваний (Duarte-Rey C., 2012, Louis A.G, Gupta S., 2014). Дефицит IgM может носить селективный характер. При этом показатели других классов иммуноглобулинов (IgG, IgA и IgE) в пределах нормы. Различают два типа дефицита IgM – первичный (врожденный) и вторичный (приобретенный). Первичный дефицит IgM регистрируют с частотой 0,1%, вторичный – значительно чаще – 2% от общего числа госпитализированных больных. Природа дефицита IgM до конца не изучена. Считают, что синтез IgM подавляется Т клетками-супрессорами на фоне снижения Т клеток-хелперов. Дефицит IgM отмечают при нефротическом синдроме, при котором идет потеря иммуноглобулинов с мочой. Низкое содержание IgM наблюдают у детей до 5 мес., что объясняет повышенную восприимчивость к инфекциям этой возрастной группы. Не исключено, что у лиц с низкой концентрацией IgM вакцинация не приводит к формированию достаточного продолжительного поствакцинального иммунитета (Racine R., Winslow G.M., 2009). Это объясняет случаи серонегативных реакций у лиц, получивших полный курс плановых прививок (корь, краснуха, паротит, гепатит В и др.). При исследованиях *in vitro* установлено, что интерлейкин-2 усиливает фоновую продукцию IgM В-клетками новорожденного (Punnonen I., 2008). Эти данные являются показателем возможности проведения эффективной иммунотерапии при селективном дефиците IgM.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ВНУТРИБОЛЬНИЧНОГО ИНВАЗИВНОГО КАНДИДОЗА В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

Шагдилеева Е.В., Рауш Е.Р., Богомолова Т.С., Васильева Н.В., Климко Н.Н.

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

THE RESULTS OF THE STUDY OF NOSOCOMIAL INVASIVE CANDIDOSIS IN ST. PETERSBURG

Shakhdileeva E.V., Rausch R.E., Bogomolova T.S., Vasilyeva N.V., Klimko N.N.

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

Инвазивный кандидоз (ИК) – самый распространенный внутрибольничный микоз. Частота ИК возросла в связи с широким использованием инвазивных вмешательств, искусственной вентиляции легких, парентерального питания и назначения антибактериальных препаратов широкого спектра действия. ИК характеризуется тяжестью клинических проявлений, высокой общей и атрибутивной летальностью. Отечественными исследователями данной проблемы недостаточно.

Цель работы – изучить этиологию, факторы риска развития, клинико-лабораторные особенности, оценить эффективность лечения внутрибольничного инвазивного кандидоза.

Материалы и методы. Провели наблюдательное проспективное исследование с 2011 г. по 2014 г. в стационарах Санкт-Петербурга. Использовали критерии диагностики инвазивных микозов EORTC/MSG 2008 г.

Результаты. Всего включено 94 взрослых пациента с диагнозом «доказанный» ИК по критериям EORTC/MSG, возраст – от 18 до 85 лет, медиана – 53 (38,5÷65), женщин – 52%.

Частота ИК в многопрофильном стационаре составила 0,3 на 1000 госпитализированных больных (13 / 44423), доверительный интервал по угловому преобразованию Фишера – 0,16÷0,47. На момент выявления ИК длительность пребывания больных в стационаре варьировала от двух до 162 суток, медиана – 21 день (13÷35). Основные фоновые заболевания: онкология – 32%, абдоминальная и торакальная хирургические патологии – 26%, тяжелые травмы и ожоги – 15%.

Наиболее часто ИК развивался у больных с центральным венозным катетером (ЦВК) – 91%, получавших антибактериальные препараты широкого спектра действия – 86%, ИВЛ – 66%, а также после оперативных вмешательств в течение последних двух недель – 56%.

Основные клинические варианты ИК – кандидемия (83%) и кан-

дидозный перитонит (12%). Клинические проявления ИК неспецифичны: повышение температуры тела $\geq 38,5$ °C (45%) или снижение $< 36,0$ °C (3%); дыхательная недостаточность (46%). Показатели оценки тяжести состояния по шкале APACHE II были от 13 до 29 баллов, медиана – 15.

У большинства больных диагноз ИК был подтвержден посевом крови (83%) или других «стерильных» в норме биосубстратов (30%). Реже диагноз устанавливали на основании выявления почкующихся дрожжевых клеток при микроскопии «стерильных» в норме биосубстратов – у 4% больных, гистологии биоптатов – у 3% или серологии (положительных тестов на маннан и антиманнанные антитела) – у 2%. Возбудителями ИК были: *C. albicans* – 40%, *C. parapsilosis* – 27%, *C. glabrata* – 12%, *C. krusei* – 6%, *C. tropicalis* – 4%, *C. dubliniensis* – 1%, *C. guilliermondii* – 1%, *C. lusitanae* – 1% и *C. famata* – 1%; идентифицированы только до рода 8% штаммов.

Пациентам с ИК проводили дополнительные методы обследования для выявления очагов диссеминации – РГ (69%) или КТ (44%) органов грудной клетки, УЗИ (65%) или КТ (41%) органов брюшной полости, ЭХО-КГ (44%), а также МРТ или КТ головного мозга (18%). На РГ легких наиболее часто наблюдали мелкие очаги (31%) и симптом «воздушной бронхограммы» (11%), на КТ легких – мелкие очаги (12%). Также обнаружили очаги диссеминации при КТ (12%) или УЗИ (10%) органов брюшной полости, при КТ или МРТ головного мозга (3%), при ЭХО-КГ в 4% случаев отмечали признаки бородавчатого эндокардита – вегетации.

Удаление или замену ЦВК в первые 24 часа после постановки диагноза ИК выполнили у 23% пациентов, более позднее удаление – у 11%.

Антимикотическую терапию назначали 75 больным ИК (81%), из них антимикотики в первые сутки после постановки диагноза – 45%. Наиболее часто использовали флуконазол (80%), эхинокандины (29%), вориконазол (20%), реже – липидный комплекс амфотерицина В (15%) и амфотерицин В (5%). Длительность антимикотической терапии составляла от одного до 260 дней, медиана – 15 (8÷29).

Общая выживаемость пациентов в течение 30 суток составила 55%. Удаление или замена ЦВК в первые сутки, раннее начало антимикотической терапии достоверно улучшают показатели выживаемости ($p < 0,05$).

Выводы. Частота инвазивного кандидоза в многопрофильном стационаре – 0,3 на 1000 госпитализированных больных в год. Фоновые заболевания: онкология – 32%, абдоминальная и торакальная хирургические патологии – 26%, тяжелые травмы и ожоги – 15%; факторы риска: центральный венозный катетер – 91%, антибактериальные препараты широкого спектра действия – 86%, ИВЛ – 66%, оперативные вмешательства в течение последних двух недель – 56%. Возбудители: *C. albicans* – 40%, *C. parapsilosis* – 27%, *C. glabrata* – 12%, *C. krusei* – 6% и *C. tropicalis* – 4%. Основные клинические варианты ИК – кандидемия (83%) и кандидозный перитонит (12%). Общая выживаемость пациентов в течение 30 суток – 55%. Замена или удаление ЦВК, а также начало антимикотической терапии в первые сутки позволяют снизить летальность.

Introduction. Invasive candidosis (IC) is the most common cause of invasive nosocomial fungal infections. The frequency of IC has increased due to the use of invasive procedures, mechanical ventilation, parenteral nutrition and broad spectrum antibiotics. IC is characterized by the severity of clinical symptoms and right rate of morbidity and mortality. National data are limited.

Objective: to determine etiology, risk factors, clinical features and mortality in adult patients with nosocomial IC.

Methods. The prospective study was conducted during the period 2011-2014 y.y. in Saint-Petersburg. Diagnosis of IC was made according to EORTC/MSG criteria (2008).

Results. We observed 94 patients with IC, the median age was 53 y. (range 38,5 ÷ 65), females - 52%.

The frequency of IC was 0.3 per 1,000 hospitalized patients (13/44423) in the tertiary hospital, confidence interval the angular conversion Fischer – 0,16 ÷ 0,47. IC developed at 2 - 162 days after admission to hospital, median – 21 days (13÷35). Underlying conditions were: oncology – 32%, abdominal and thoracic surgery - 26%, heavy trauma and burns – 15%.

Main risk factors were: central venous catheters (CVC) – 91%, broad spectrum antibiotics – 86% mechanical ventilation – 66%, surgery in the previous 2 week – 56%. The main options were candidemia (83%) and peritonitis (12%). Clinical manifestations of IC were nonspecific: fever $\geq 38,5$ °C (45%) or a decrease $< 36,0$ °C (3%); respiratory failure (46%), HIV etc. Median APACHE score II was 15 (13÷29). Diagnosis was con-

firmed by blood culture – 83%, other normally sterile substrates culture – 30%, histology – 3%, test «Platelia Mannan EIA» and test «Platelia Anti-Mannan EIA» (Bio-Rad) was completed of 2% patients. *Candida albicans* was isolated in 40% cases, *C. parapsilosis* – 27%, *C. glabrata* – 12%, *C. krusei* – 6%, *C. tropicalis* – 4%, *C. dubliniensis* – 1%, *C. guilliermondii* – 1%, *C. lusitanae* – 1%, *C. famata* – 1%, *Candida* spp. – 8%. Additional clinical investigations carried out to identify locations of dissemination: X-rays (69%) or CT scan (44%) were of chest, ultrasound (65%) or CT scan (41%) of abdominal cavity, cardiography (44%), MRIs or CT scan brain (18%). Small lesions (31%) and the symptom of “air bronchogram” (11%) were identified by X-rays lungs, and small lesions (12%) were identified by CT scan lung. Also sites of dissemination were found CT (12%) or ultrasound (10%) of abdominal cavity, CT scan or MRI of brain (3%). Signs of verrucous were endocarditis observed at cardiography in 4% of cases.

CVC was removed early (<24 h) in 23% patients, later – 11%.

Antifungal therapy was used in 81% patients (fluconazole – 80%, echinocandin – 29%, voriconazole – 20%, lipid amphotericin B – 15%, amphotericin B deoxycholate – 5%). Antifungal treatment was used early (<24 h) in 45% patients. The duration of antifungal therapy was 1 – 260 days, median – 15 (8÷29).

Overall survival in 30 days was 55%. Central venous catheters removal and early (<24 h) antifungal treatment increased survival rate (p<0,05).

Conclusion. The frequency of IC was 0.3 per 1,000 hospitalized patients in the tertiary hospitals during 2011-2014 y.y. in the year. Underlying conditions were: oncology – 32%, abdominal and thoracic surgery – 26%, heavy trauma and burns – 15%. Main risk factors were: central venous catheters (CVC) – 91%, broad spectrum antibiotics – 86%, mechanical ventilation – 66%, surgery in the previous 2 weeks – 56%. *C. albicans* was isolated in 40% cases, *C. parapsilosis* – 27%, *C. glabrata* – 12%, *C. krusei* – 6%, *C. tropicalis* – 4%. The main clinical presentations were candidemia (83%) and peritonitis (12%). Overall survival in 30 days was 55%. Central venous catheters removal and early (<24 h) antifungal treatment are needed for increasing survival rate.

СЛУЧАЙ МИКОЗА ЛЁГКИХ, ВЫЗВАННОГО *EXOPHIALA DERMATITIDIS*, У ПАЦИЕНТА С ОСТРЫМ МИЕЛОМОНОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ (M4 ВАРИАНТ)

¹Шагдильева Е.В., ¹Хостелиди С.Н., ²Ружинская О.С., ²Рябыкина О.Е., ²Успенская О.С., Богомолова Т.С., ¹Руднева М.В., ¹Игнатьева С.М., ¹Климко Н.Н.

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова; ²Ленинградская областная клиническая больница, Санкт-Петербург, Россия

A CASE OF LUNGS MYCOSIS CAUSED BY *EXOPHIALA DERMATITIDIS* IN A PATIENT WITH ACUTE MYELOBLASTIC LEUKEMIA (M4 VARIANT)

¹Shagdileeva E., ¹Khostelidi S., ²Ruzhinskaya O., ²Riabykina O., ²Uspenskaya O.S., ¹Bogomolova T., ¹Rudneva M., ¹Ignatyeva S., ¹Klimko N.

¹I.I. Metchnikov North-Western State Medical University, ²Leningrad Regional Clinical Hospital, St. Petersburg, Russia

Основными возбудителями инвазивных микозов у гематологических больных являются *Aspergillus* spp., *Candida* spp., однако в последние годы и редкие возбудители становятся причинами тяжелых инвазивных микозов. Количество публикаций, посвященных проблеме редких микозов у онкогематологических больных, ограничено.

Материалы и методы. Представлен клинический случай успешного лечения микоза лёгких, вызванного *Exophiala* sp., у пациента с острым миеломонобластным лейкозом (M4 вариант).

Результаты. Больной А., 56 лет, 31.10.14 г. был госпитализирован в ЛОКБ. Предъявлял жалобы на множественные кровоизлияния в слизистые оболочки, слабость, боли в горле, повышение температуры тела до 38,5 °С.

Был установлен диагноз: острый миеломонобластный лейкоз (M4-вариант). В ноябре 2014 г. проведена потихимioterapia (ПХТ) по схеме «7+3» (ремиссия не достигнута). Лечение осложнилось агранулоцитозом. На 13 день после ПХТ в периферической крови появились бласты – 8%. ПХТ продолжена. На фоне терапии состояние пациента ухудшилось (появилась одышка, редкий кашель, сохранялась субфебрильная температура тела).

16.12.14 г. выполнена компьютерная томография (КТ) органов грудной полости: усиление легочного рисунка за счет интерстициального компонента в S6 и базальных сегментах легких. Усиlena антибактериальная терапия (имепенем, ванкомицин, линезолид) с частичным клиническим эффектом, затем – эмпирическая антимикотическая терапия (амфотерицин В – 1 мг/кг/сут.) с 19.12.14 г.

На контрольной КТ легких (26.12.14) наблюдали отрицательную динамику – признаки очагов обоих легких (на границе S2 и S6, в S6, слева в S6 и S10 – диаметром 4,8 мм, 4,6 мм, 12 мм, 15 мм соответственно), малый гидроторакс справа (до 7,2 мм). Выполнен тест на галактоманнан в сыворотке крови и промывной жидкости из бронхов (ПЖБ), результат отрицательный.

При микроскопии ПЖБ, грибы не обнаружили, однако при посеве выявили *Exophiala* sp. По морфологическим признакам и с помощью ITS-секвенирования культуру идентифицировали *Exophiala dermatitidis*. В связи с чем провели коррекцию антимикотической терапии: амфотерицин В был заменен на итраконазол 400 мг/сут. Вместе с тем, пациент стал получать стимуляторы лейкопоза. На фоне проведенной терапии отмечали клиническое улучшение состояния больного и положительную динамику изменений в легких при КТ исследовании (минимальный регресс инфильтративных изменений уменьшение интерстициальных от 08.01.2015).

Через два месяца лечения антимикотиками достигнута стабилизация инвазивного микоза. В связи с наличием факторов риска пациенту продолжена антимикотическая терапия итраконазолом. Пациент продолжает лечение основного заболевания по месту жительства.

Вывод. Онкогематологическим пациентам с нейтропенией показана фибробронхоскопия с микологическим исследованием ПЖБ и обязательной идентификацией возбудителя. Для успешного лечения таких микозов необходимо сочетание адекватной антимикотической терапии и коррекции факторов риска.

Frequency of invasive mycoses due to rare pathogens in hematological patients has increased in last years. The number of publications about these mycoses is limited.

Methods. A clinical case of successful treatment of fungal infection of these lungs caused by *Exophiala dermatitidis* in a patient with acute myeloblastic leukemia (M4 variant).

Results. Male, 56 years old, was admitted to the Leningrad regional clinical hospital on 31.10.2014 y. with mucous membranes in hemorrhages, weakness, and fever up to 38,5° C. The diagnosis was: acute myeloid leukemia (M4 variant).

He was prescribed paticipatory (PCTs) under the scheme “7+3” in November, 2014 (remission was not achieved). Conducted therapy was complicated by agranulocytosis, blasts - 8% in 13 days. After PCTs the patient was prescribed under the scheme “HAM” (cytosar, mitoxantrone). The patient’s condition deteriorated on the background of the prescribed treatment (short of breath, rare cough, persisted subfebrile body temperature).

CT scan of the chest was made on 16.12.2014: increased lung pattern due to the interstitial component in S6 and basal segments of the lungs. Antibacterial therapy was enhanced (imipenem, vancomycin, linezolid) with partial clinical effect, then empirical antimycotic therapy was prescribed - amphotericin b (1 mg/kg/day) with 19.12.2014. On control CT scan (26.12.2014), negative dynamics was identified, signs of lesions of both lungs (on the boundary of S2 and S6, S6, left in S6 and S10 - diameter 4.8 mm, 4.6 mm, 12 mm, 15 mm, respectively), small hydrothorax on the right (up to 7.2 mm). Test «Platelia *Aspergillus* EIA» (Bio-Rad) was negative in BAL. At microscopy of BAL the fungal elements not detected. However, numerous colonies of black fungus were cultured. The isolate was identified as *Exophiala dermatitidis* morphologically and by ITS-sequencing. Amphotericin B was replaced by itraconazole 400 mg/day. The patient began receiving stimulants of leykopoeza. On the background of the therapy, there was marked clinical improvement of the patient and the positive dynamics of changes in the lung during a CT study (a minimum setback of infiltrative changes decrease from interstitial 08.01.2015).

Invasive fungal infection has stabilized after two months of antimycotic therapy. Due to the presence of risk factors the patient continued antifungal therapy with Itraconazole. The patient continues the treatment of the disease by place of residence.

Conclusion. Onco-hematological patients with neutropenia need the fiber-optic bronchoscopy with mycological examination BAL, and mandatory identification of the pathogen. Successful treatment of fungal infections were requires a combination of adequate antifungal therapy

and correction of risk factors.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ПРИ ИНВАЗИВНОМ АСПЕРГИЛЛЕЗЕ У ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Шадринова О.В.¹, Фролова Е.В.², Учеваткина А.Е.², Филиппова Л.В.², Богомолова Т.С.², Васильева Н.В.², Клишко Н.Н.¹

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, ²НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, Санкт-Петербург, Россия

THE CLINICAL SIGNIFICANCE OF IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN INVASIVE ASPERGILLOSIS IN HEMATOLOGICAL PATIENTS

Shadrivova O.V.¹, Frolova E.V.², Uchevatkina A.E.², Filippova L.V.², Bogomolov T.S.², Vasilieva N.V.², Klimko N.N.¹

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

Известно, что инвазивный аспергиллез (ИА) у гематологических пациентов развивается на фоне выраженного иммунодефицита, однако особенности иммунного реагирования и влияние иммунологических нарушений на прогноз ИА у гематологических больных изучены недостаточно.

Цель работы – изучение динамики иммунологических показателей и определение их прогностического значения у гематологических больных ИА.

Материалы и методы. Обследовано 83 гематологических пациента с ИА. Иммунологическое исследование проводили гематологическим больным на ранней стадии заболевания (через 1-4 недели от постановки диагноза ИА), динамику показателей оценивали через 2-3 месяца и на момент ремиссии ИА (перед отменой антимикотической терапии). Для постановки диагноза ИА использовали критерии EORTS/MSG, 2008.

В I группу включили 48 больных, у которых ИА развился после цитостатической полихимиотерапии (ПХТ), в возрасте 18-78 лет, медиана – 46 (33÷58); мужчин – 42%, женщин – 58%. II группа – 35 реципиентов аллогенных трансплантатов гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) в возрасте 18-59 лет, медиана – 26 (21÷44); мужчин – 51%, женщин – 49%. Субпопуляционный состав лимфоцитов крови определяли иммуноцитохимическим методом с использованием моноклональных антител, уровни иммуноглобулинов в сыворотке крови выявляли иммунотурбидиметрическим методом, индуцированную продукцию цитокинов оценивали с помощью иммуноферментных тест-систем «Цитокин». Полученные данные обрабатывали с помощью программной системы STATISTICA for Windows и XL STAT. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты. В I группе период от начала проведения ПХТ до возникновения ИА составил от 5 до 50 дней (медиана – 30). Пациентам II группы проводили алло-ТГСК: неродственную – 56%, родственную – 31%, гаплоидентичную – 13%; у 64% пациентов ИА развился в раннем посттрансплантационном периоде (до 100-го дня). В структуре фоновых заболеваний у пациентов обеих групп преобладал острый лейкоз – 56% и 66% соответственно. Все пациенты получали антимикотическую терапию с момента постановки диагноза ИА. Общая выживаемость в течение 3-х месяцев составила 90% и 71%. При сравнительном анализе иммунологических показателей на ранней стадии ИА наблюдали достоверное снижение абсолютного числа всех субпопуляций лимфоцитов в обеих группах. Особенностью реципиентов алло-ТГСК, по сравнению с получающими ПХТ, было более выраженное снижение абсолютного количества лимфоцитов за счет Т-хелперов CD4+ ($p=0,01$), естественных киллеров CD16+ ($p=0,001$) и более низкая продукция IgG и IgA ($p=0,007$ и $p=0,0003$) соответственно. У всех гематологических больных отмечали снижение продукции цитокинов ИФН- γ , ФНО- α , ИЛ-17, Г-КСФ и ИЛ-10, но наиболее низкие уровни обнаружили у реципиентов алло-ТГСК.

В ходе мониторинга иммунологических показателей у гематологических больных, в зависимости от исхода ИА, установили, что для благоприятного течения ИА необходимо восстановление иммунологических показателей. Выявили увеличение продукции ФНО- α ($p=0,02$) и уровня Г-КСФ ($p=0,001$) у получающих ПХТ пациентов. Отмечали повышение абсолютного числа Т-хелперов CD4+ ($p=0,03$) и способности лейкоцитов к продукции ФНО- α ($p=0,04$), Г-КСФ

($p=0,02$), ИЛ-10 ($p=0,03$) и ИЛ-6 ($p=0,04$) у реципиентов алло-ТГСК.

При анализе влияния иммунологических параметров на выживаемость обнаружили положительные прогностические факторы 12-недельной выживаемости гематологических больных с ИА: абсолютное количество Т-хелперов CD4+ $> 0,177 \times 10^9/\text{л}$, $p=0,002$ и уровень ФНО- $\alpha > 215$ пг/мл, $p=0,0001$

Вывод. Инвазивный аспергиллез у гематологических больных развивается на фоне нарушения всех звеньев иммунного ответа, наиболее выраженные иммунологические нарушения характерны для реципиентов алло-ТГСК. Для благоприятного течения инфекционного процесса у гематологических больных необходимо восстановление иммунологических показателей. Прогностически значимыми маркерами благоприятного исхода инвазивного аспергиллеза являются абсолютное количество Т-хелперов CD4+ $> 0,170 \cdot 10^9/\text{л}$ и способность клеток крови к продукции ФНО- $\alpha > 204$ пг/мл.

It is known that invasive aspergillosis (IA) in hematological patients develops on the background of severe immunodeficiency, but the immune response features and immunological disorders influence to the IA prognosis in hematological patients are not well understood.

Objective. To study of immunological parameters dynamics and definition of their prognostic value in hematological patients with IA.

Materials and methods. We observed 83 hematological patients with IA. Immunological parameters were evaluated within 2-4 weeks after IA diagnosis, after 2-3 months, and at the time of IA remission (before antifungal therapy stopping). For the diagnosis of IA criteria EORTS / MSG, 2008 were used.

Group I included 48 patients after cytotoxic chemotherapy (CT), range 18 - 78 years, median - 46 (33 ÷ 58); male - 42%, female - 58%. Group II - 35 recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplant (allo-HSCT), range - 18 - 59 years, median - 26 (21 ÷ 44); male - 51%, female - 49%. Lymphocyte subsets were determined by using monoclonal antibody («DAKO»). Immunoglobulin levels in serum were evaluated by nephelometric method for protein analyzer «Turbox plus». Blood cell supernatants were tested for IFN- γ , IL-6, IL-10, IL-17, TNF- α and G-CSF using an ELISA test («Cytokine», Russia). Data were analyzed using Statistica 6.0 software. Differences were considered significant if a significance level of $p < 0,05$.

Results. After CT the IA was diagnosed between 5 and 50 days (median - 30). Patients after allo-HSCT had unrelated donors - 56%, HLA-matched - 31% and HLA-mismatched donors - 13%. IA developed in the early post-transplant period (100-day) in 64% of patients. In these groups the prevailing underlying diseases were: acute leukemia - 56% and 66%, respectively. All patients received antifungal therapy after diagnosis of IA. 12th weeks overall survival was 90% and 71% in both groups, respectively. We identified significant decrease in the absolute number of lymphocyte subsets in both groups at the early stage of IA. In allo-HSCT patients were found: significant decrease of T-helper cells CD4 + number ($p = 0.01$), natural killer cells CD16 + ($p = 0.001$) and a lower production of IgG and IgA ($p = 0.007$ and $p = 0.0003$), respectively, compared with CT patients. Reduction of proinflammatory cytokines production (IFN- γ , TNF- α , IL-17, G-CSF and IL-10) were detected in all hematological patients with IA, but in allo-HSCT group - showed the most significant irregularities. We examined the immunological parameters dynamics depending on the IA outcome. We revealed increase of TNF- α ($p = 0.02$) and G-CSF ($p = 0.001$) production in CT patients, increase of the T-helper absolute number CD4 + ($p = 0,03$) and the ability of leukocytes to TNF- α ($p = 0.04$), G-CSF ($p = 0.02$), IL-10 ($p = 0, 03$) and IL-6 ($p = 0.04$) production in recipients of allo-HSCT. We found positive predictors of a 12-week survival of hematological patients with IA: the absolute T-helper CD4 + number $> 0,177 \times 10^9/\text{L}$, $p = 0,002$, and the TNF- α level > 215 pg/ml, $p = 0.001$.

Conclusion. Invasive aspergillosis in hematological patients develops on the background violations of all parts of the immune response; most expressed immunological disorders are typical for allo-HSCT recipients. For successful treatment of infectious complications in hematological patients is necessary to restore immunological parameters. The absolute number of T-helper CD4 +, and the blood cells ability to produce TNF- α are significant prognostic markers of a favorable outcome of invasive aspergillosis.

ЭТИОЛОГИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ВНУТРИБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ И ИХ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ В ОТДЕЛЕНИИ РЕАНИМАЦИИ И ИНТЕНСИВНОЙ ТЕРАПИИ

Шамаева С.Х.¹, Сизых Т.В.¹, Кузьмина А.А.², Варфоломеева Н.А.², Малогулова И.Ш.²

¹Республиканская больница №2 - Центр экстренной медицинской помощи; ²Северо-восточный федеральный университет им. М.К. Амосова, Медицинский институт, Республика Саха (Якутия), Россия

ETIOLOGY OF THE CAUSATIVE AGENTS OF NOSOCOMIAL PNEUMONIA AND THEIR ANTIBIOTIC RESISTANCE IN THE INTENSIVE CARE UNIT AND INTENSIVE THERAPEUTICS

Shamaeva S.H.¹, Sizykh T.V.¹, Kuzmina A. A.², Varfolomeeva N. A.², Malogulova I. Sh.²

¹Respublikanskaya hospital №2-Center for emergency medical care; ²M. K. Amosov North-Eastern Federal University, Medical Institute, Republic of Sakha (Yakutia), Russia

Цель – изучить этиологию возбудителей внутрибольничной пневмонии и провести анализ их антибиотикочувствительности у больных с острым нарушением мозгового кровообращения.

Материалы и методы. Исследовали 152 штаммов условно-патогенных микроорганизмов из эндотрахеального аспирата и бронхоальвеолярного лаважа у 59 больных с нозокомиальной пневмонией, находившихся в отделение реанимации и интенсивной терапии в период с 2011-2013 гг. Данные для анализа получены из компьютерной программы WHONET 5.6. Выделение и идентификацию возбудителей проводили в соответствии со стандартными методиками. Продукцию бета-лактамазы расширенного спектра действия (БЛРС) у энтеробактерий определяли фенотипическим методом «двойных дисков» на среде Мюллера-Хинтон с использованием дисков с антибиотиками (Биорад).

Результаты. В этиологической структуре возбудителей преобладали грамотрицательные микроорганизмы (68,4%), грамположительные составили 21%, грибы – 10,6%. Из грамотрицательных микроорганизмов доминировали представители семейства *Enterobacteriaceae* (63,5%), среди них наиболее часто выявляли *Klebsiella pneumoniae* (63,6%) и *Escherichia coli* (27,2%). Доля неферментирующих грамотрицательных бактерий составляла 36,5%, из них частота выделения из биоматериала *Pseudomonas aeruginosa* составила 55,2%, *Acinetobacter baumannii* – 44,8%. Среди грамположительных бактерий ведущая роль принадлежала *Staphylococcus aureus* (47%) и *S. epidermidis* (35,2%). Продукцию БЛРС наблюдали у 61,5% штаммов *K. pneumoniae* и 27,7% *E. coli*. Все штаммы *K. pneumoniae* и *E. coli* были чувствительными к карбапенемам. Из 20 протестированных культур *P. aeruginosa* резистентными к меропенему были 45%, к имипенему – 41,1%.

Выводы. Результаты проведенного анализа показано, что в этиологической структуре внутрибольничной пневмонии преобладали грамотрицательные микроорганизмы, характеризующиеся высоким уровнем резистентности к антибактериальным препаратам. Это необходимо учитывать при проведении эмпирической и рациональной антибиотикотерапии.

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЛАКТОБАКТЕРИЙ В ОТНОШЕНИИ CANDIDA SPP.

Шаповал О.Г., Бурлачева Е.В., Нечаева О.В.

Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского МЗ России, Саратов, Россия

ANTAGONIST ACTIVITY OF LACTOBACTERIA AGAINST CANDIDA SPP.

Shapoval O.G., Burlacheva E.V., Nechaeva O.V.

Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Saratov, Russia

Назначение пробиотиков на основе лактобактерий продолжает оставаться одним из практических способов коррекции дисбиоза нижних отделов урогенитального тракта и кандидозных поражений данного биотопа.

Цель исследования – оценка антагонистической активности пробиотических штаммов лактобактерий в отношении 18 штаммов *Candida* spp., выделенных из влагалища беременных женщин с кандидозным вульвовагинитом. Культуру лактобактерий выделяли из лиофилизированного препарата «Лактобактерин» путем посева его десятикратного разведения (в физиологическом растворе натрия хлорида) на агаризованную среду МРС (Манн-Рогоза-Смита). Культуры *Candida* spp. выделяли посевом отделяемого половых путей на агар Сабуро с последующим микроскопическим исследованием окрашенных по Граму мазков. Оценка антагонистической активности проводили методом двухслойного агара, нижний слой которого составил лактоагар, содержащий двухсуточную бульонную культуру лактобактерий в концентрации $2 \cdot 10^8$ КОЕ/мл, а верхний слой – агар Сабуро с поверхностным посевом культуры штамма гриба концентрацией $2,5 \cdot 10^5$ КОЕ.

Результаты учитывали через 24 часа инкубации в аэробных условиях при 37 °С, сравнивая количество колоний, выросших на чашках с лактобактериями, и без них (контрольные посева). Антагонистическую активность лактобацилл расценивали как низкую при снижении количества колоний, по сравнению с контролем, на 1-2 lg, умеренную – на 3-4 lg, высокую – более 4 lg.

Результаты. Пробиотический штамм лактобацилл во взятой концентрации обладает умеренной антагонистической активностью в отношении 7 штаммов и низкой – в отношении 11 штаммов дрожжеподобных грибов, согласно снижению количества колоний по сравнению с контролем. Кроме того, у всех штаммов в опытных посевах отмечали признаки фенотипической изменчивости культур: заметно более мелкие размеры колонии и отсутствие яркого белого их цвета по сравнению с контролем.

Заключение. Для прогноза эффективности использования пробиотического штамма лактобактерий в отношении штаммов дрожжеподобных грибов целесообразно предварительное определение его антагонистической активности.

Prescription of probiotics contained lactobacilli remains as a practice method for correction of dysbiosis and candidosis of urogenital system.

The aim of the research is the assessment of antagonist activity of probiotic strains of lactobacilli against 18 strains of *Candida* spp., isolated from pregnant women with vaginal candidosis. The culture of lactobacilli was isolated from dried probiotic "Lactobacterin" by seeding its tenfold dilution on solid MRS (Man-Rogosa-Sharpe) agar. The cultures of *Candida* spp. were isolated by primary seeding of vaginal mucus on Sabouraud followed by description of isolated colonies and microscopical examination of Gram-stained smears. The antagonist activity was determined by two-layer agar method. The low layer of the medium contained lactoagar with $2 \cdot 10^8$ CFU/ml of 48h culture of lactobacilli, and the upper layer consisted of Sabouraud agar seeded with $2,5 \cdot 10^5$ CFU of the fungi.

After overnight incubation in aerobic conditions at the temperature 37°C a number of fungal colonies on the medium with lactobacilli was compared with the control results (on the medium without lactobacilli). The antagonist activity was defined as low when the amount of fungal colonies decreased by 1-2 lg, as intermediate – by 3-4 lg and high – more than 4 lg in comparison with the controls.

Results. According to decrease in colonies number the probiotic strain in the concentration used has shown intermediate antagonist activity against 7 strains and low one against 11 yeast strains. Moreover, the phenotypic sings (small sizes of colonies, absence of white color) have been determined in all strains of *Candida* spp. grown with lactobacilli.

Conclusion. Antagonist activity of probiotic strains of lactobacilli against strains of *Candida* spp. should be tested prior to use, in order to get the best results of administration.

ВЛИЯНИЕ ХАРАКТЕРА ВЗАИМОТНОШЕНИЙ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ *CANDIDA*-БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЭТИОЛОГИИ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ И ЭПИДЕМИОЛОГИЮ НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Шаталова Е.В., Парахина О.В.

Курский государственный медицинский университет, Курск, Россия

CHARACTER INFLUENCE OF PATHOGENS INTERACTIONS OF SUPPORTIVE INFLAMMATION PROCESSES OF *CANDIDA* BACTERIAL ETIOLOGY TO THE DURATION AND EPIDEMIOLOGY OF NOSOCOMIAL INFECTIONS

Shatalova E.V., Parachina O.V.

Kursk State Medical University, Kursk, Russia

Несмотря на обилие новых препаратов с антимикробным действием, в выборочных исследованиях, проведенных на различных территориях нашей страны и за рубежом, отмечают значительное распространение нозокомиальных инфекций (НИ), большой медицинский и социально-экономический ущерб, наносимый ими.

Этиологическая структура возбудителей НИ многообразна, отличается своим разнообразием не только между регионами, но и между отдельными ЛПУ и зависит от его профиля, политики применения антибиотиков и оказываемой лечебной помощи.

Особое беспокойство у врачей разных специальностей вызывают смешанные *Candida*-бактериальные инфекции, которые превратились в актуальные «болезни настоящего» (Wingard E.J., 2007). Особенности взаимоотношений возбудителей в таких ассоциациях могут оказывать влияние на течение и исход гнойно-воспалительного процесса.

Цель исследования – изучить характер взаимоотношений грибов рода *Candida* в ассоциациях со *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и их влияние на продолжительность гнойно-воспалительного процесса.

Материалы и методы. Использовали выделенные от больных многопрофильных стационаров г. Курска по 20 штаммов *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* и *C. albicans* (80 штаммов). Из них 44 (55,0%) культур входили в состав различных ассоциаций. Выживаемость культур в *Candida*-бактериальных ассоциациях изучали в опытах *in vitro* и *in vivo* (на мышах линии СВА).

Результаты. При совместном культивировании *in vitro* с *Candida* spp. (по 0,2 мл 1 млрд. взвеси) высеваемость эшерихий и стафилококка прекратилась на 20 и 25 сутки исследования соответственно. В тех же условиях выживаемость псевдомонад сохранялась до 60 суток включительно. Следовательно, в ассоциации из *Candida* spp. и псевдомонад сложились выраженные синергидные взаимоотношения. Эти результаты были подтверждены и в опытах *in vivo*. Установлено, что полное заживление ожоговой раны, инфицированной ассоциацией из грибов и эшерихий, грибов и стафилококка, наступало на $18 \pm 1,5$ и $20,6 \pm 1,8$ сутки соответственно. Заживления раны, инфицированной грибами и псевдомонадами, не наблюдали до конца исследования (60 сутки). При изучении структуры популяции ассоциантов, выделенных из такой раны, выявили увеличение числа особей, обладающих признаками патогенности и резистентности к антибиотикам. Выживаемость животных составила 65,0%, 54,0% и 22,0% соответственно.

Заключение. Нами впервые установлено, что характер взаимоотношений возбудителей НИ в ассоциациях *Candida*-бактериальной природы имеет прямое влияние на устойчивость ассоциации, свойства ассоциантов, продолжительность и исход инфекционного процесса. Это, в свою очередь, влияет на длительность циркуляции возбудителей, а, следовательно, и эпидемиологию нозокомиальных инфекций.

ДИАГНОСТИКА ПАТОГЕННЫХ ЛИСТЕРИЙ С ПРИМЕНЕНИЕМ ИММУНОМАГНИТНОГО РАЗДЕЛЕНИЯ, СОВМЕЩЕННОГО С ИММУНОХРОМАТОГРАФИЕЙ

Шевяков А.Г., Борзенков В.Н., Ветчинин С.С.

Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболонск, Россия

DETECTION PATHOGENIC LISTERIA WITH IMMUNOMAGNETIC SEPARATION AND IMMUNOCHROMATOGRAPHY

Shevyakov A.G., Borzenkov V.N., Vetchinin S.S.

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia

Вызываемый бактерией *Listeria monocytogenes* листериоз – опасная пищевая инфекция, всё чаще встречающаяся в клинике. Особую опасность это заболевание представляет для людей со сниженным иммунитетом. В связи с этим актуальной задачей является разработка доступных для широкого использования методов диагностики патогенных листерий.

Цель – ускоренное обнаружение *L. monocytogenes* с применением иммуномагнитных частиц (ИМЧ) в иммунохроматографической (ИХ) диагностике листерий.

Материалы и методы. Использовали штаммы микроорганизмов *L. monocytogenes* – 12ИП, ATCC 11994, ATCC 766, карбоксилированные магнитные частицы «Estapor microspheres» (диаметр 200 нм, Merck Millipore), моноклональные и поликлональные антитела к антигену листерий p60, мембраны для ИХ тестов производства MDI (Индия).

Бактерии культивировали в селективной среде ПБЛ. Через каждые два часа отбирали образцы культуральной жидкости, инкубировали с ИМЧ 20 минут и наносили частицы на тест-полоску. Для контроля применяли стандартный ИХ-тест с коллоидным золотом.

Результаты. Использование ИМЧ для концентрирования антигена листерий помогает сократить время накопительного культивирования. При концентрации клеток 10^3 в инокуляте достаточно 10 часов культивирования для достоверного определения в ИХ. Этот результат достигается инкубированием ИМЧ с большим объемом культуральной жидкости, чем возможно нанести на стандартных ИХ-тест с коллоидным золотом (рис.).

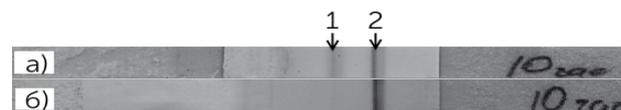


Рис. ИХ-тест а) с ИМЧ, б) с коллоидным золотом; 1 – тестовая зона, 2 – контроль

Выводы. Показана возможность ускоренного обнаружения патогенных листерий с помощью ИХ-теста на основе наноразмерных магнитных частиц. Использование магнитного сенсора при анализе результатов может дополнительно повысить чувствительность метода.

Listeriosis caused by *Listeria monocytogenes* — dangerous foodborne infections are increasingly occurring in the hospitals. This disease menace for people with reduced immunity. This thesis describes detection method for the *L. monocytogenes* that is rapid, sensitive, specific, cost-effective and simple enough to be used in the field and does not require expensive equipment or extensive training.

The goal - rapid detection of *L. monocytogenes* with using immunomagnetic particles in immunochromatographic diagnosis of listeria.

Materials and methods. Using microbial strains *L. monocytogenes* - 12IP, ATCC 11994, ATCC 766, magnetic particles «Estapor microspheres» (the diameter of 200 nm, Merck Millipore), monoclonal and polyclonal antibodies to the antigen of *Listeria* p60, IC membrane production by MDI (India). Bacteria are cultured in a selective medium LB. Every two hours, the culture fluid was sampled, incubated 20 min with IM particles and applied to the test strip. A standardized test with colloidal gold used as control.

Results. Using the IMS to concentrate *Listeria* antigen helps to reduce time of cultivation. At a concentration of 10^3 bacterial cells, require only 10 hours of cultivation for reliable detection. This result achieved by

incubation with magnetic particles large volume of culture fluid than may be applied to a standardized test with colloidal gold (Fig.).

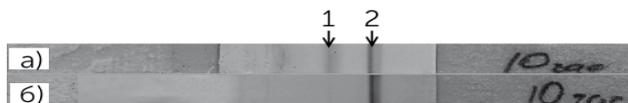


Fig. IC-Test a) with IM particles, b) with AuNP, 1 – test-zone, 2 – control

Conclusions. The possibility of rapid detection of pathogenic *Listeria* with use IC test based on nanoscale magnetic particles. Using a magnetic sensor in the analysis of the results can further improve the sensitivity of the method.

ФАКТОРЫ ПЕРСИСТЕНЦИИ ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ У ДЕТЕЙ

Шерегов А.Х. (студент 3 курса медицинского факультета по специальности «Стоматология»). Научные руководители: д.м.н., проф. Хараева З.Ф., д.м.н., проф. Мустафаев М.Ш. Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М.Бербекова, кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии, кафедра хирургической стоматологии, Россия

FACTORS PERSISTENCE OF FACULTATIVE ANAEROBIC AGENTS OF INFLAMMATORY DISEASES OF THE MAXILLO-FACIAL REGION IN CHILDREN

Sheregov A.K. (3rd year student of the Faculty of Medicine, specialty «Stomatology»). Supervisors: prof. Kharaeva Z.F., prof. Mustafayev M.S.

Kabardino-Balkaria State University, Department of Microbiology, Virology and Immunology, Department of Operative Dentistry, Russia

В связи с ростом гнойно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области (ГВЗ ЧЛО) и их осложнений не снижается интерес исследователей к проблеме одонтогенной инфекции. Современные этиологические аспекты этой инфекции характеризуются наличием широкого спектра возбудителей и дальнейшим возрастанием их количества.

Гнойно-воспалительные заболевания, вызываемые бактериальными ассоциациями с участием условно-патогенных бактерий, нередко протекают более длительно и торпидно, с мало выраженными общими симптомами гнойного воспаления. Подобное течение инфекционного процесса во многом определяют биологические свойства микроорганизмов, а именно – наличие у них высокого патогенного и персистентного потенциала. В связи с этим, исследованию факторов персистенции микроорганизмов уделяют все большее внимание, так как выраженность защитных факторов микробов определяет течение инфекционного процесса и является важным прогностическим критерием для клиницистов при оценке риска развития возможных осложнений.

Цель работы – исследовать выраженность факторов персистенции штаммов *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pyogenes*, выделенных у детей с периоститами.

Материалы и методы. Изучали микробиоту 45 больных детей с периоститами в возрасте от 6 до 11 лет (26 мальчиков и 19 девочек), находившихся на стационарном лечении за период с 2011 по 2014 гг. в отделении челюстно-лицевой хирургии Республиканской клинической больницы города Нальчик. Бактериологическое исследование проводили общепринятыми методами. Антилизоцимную активность (АЛА) и антикомплементарную активность (АКА) исследовали по методам Бухарина О.В. Полученные результаты подвергали статистической обработке. Достоверность различий определяли по критерию Стьюдента.

В работе использовали 64 штамма *S. aureus* и 45 штаммов *S. pyogenes*, выделенных из гнойного отделяемого детей с ГВЗ ЧЛО.

Результаты. Максимальный уровень антилизоцимной активности (5 мкг/мл и выше) выявили у 33 (44%) штаммов *S. aureus* и 30 (34%) штаммов *S. pyogenes*.

При определении АКА 25 штаммов *S. aureus*, 16 (64,0%) – обладали средней АКА и 4 (16%) – высокой. При определении АКА 4 штаммов *S. pyogenes*, 17 (53,2%) обладали средней АКА.

Выводы. 1) Выделено 67 штаммов с высоким персистентным

потенциалом, который является одним из значимых патогенетических факторов, приводящих к затяжному течению ГВЗ. 2) Актуальной задачей является подбор средств антимикробной терапии, подавляющей защитные факторы бактерий.

ИНГИБИРУЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ L-ЛИЗИН-А-ОКСИДАЗЫ ГРИБА *TRICHODERMA HARZIANUM* RIFAI И ОЦЕНКА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ФИТОПАТОГЕНЫ

Шнейдер Ю.А.¹, Смирнова И.П.², Каримова Е.В.^{1,2}, Приходько Ю.Н.¹

¹ Всероссийский центр карантина растений, пос. Быково; ² Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

THE INHIBITORY ABILITY OF L-LYSINE-A-OXIDASE OF FUNGUS *TRICHODERMA HARZIANUM* RIFAI AND ITS INFLUENCE ON PHYTOPATHOGENS

Shneyder Yu.A.¹, Smirnova I.P.², Karimova E.V.^{1,2}, Prihodko Yu.N.¹

¹ All-Russian plant quarantine centre, Bykovo; ² Russian university of friendship of peoples, Moscow, Russia

На кафедре биохимии им. академика Т.Т. Берёзова в течение многих лет проводят исследования L-лизин-α-оксидазы (ЛО) – противоопухолевого фермента *Trichoderma harzianum* Rifai F-180. Данный фермент является ингибитором различных вирусных инфекций человека, таких как вирус герпеса простого 1-ого типа (Патент РФ № 2022012, 1994) и ВИЧ (Патент РФ № 2022011, 1994).

Индийский вирус крапчатости картофеля (APMoV) – карантинный фитопатогенный вирус для Российской Федерации. Он распространен в высокогорье Анд в Чили, Эквадоре и Перу, а также в Бразилии. Поражает, главным образом, картофель, а также баклажаны и некоторые другие пасленовые культуры.

В предыдущих исследованиях была показана активность концентрата культуральной жидкости продуцента (КП) фермента ЛО к вирусу некротической пятнистости бальзамина (INSV) (Шнейдер Ю.А. и др. // Проблемы медицинской микологии. – №2. – 2013 и 2014) и возбудителю бактериальной пятнистости тыквенных культур *Acidovorax citrulli* (Каримова Е.В. и др. // Проблемы медицинской микологии. – 2014. – №2). Было установлен порог концентрации фермента, при котором происходит ингибирование INSV и TRSV.

Цель – провести оценку ингибирующего действия концентрата культуральной жидкости продуцента (КП) фермента ЛО на фитовирусы и испытать его на примере Андийского вируса крапчатости картофеля на растительной модели.

Материалы и методы. С целью разработки метода определения антивирусной активности ЛО в отношении APMoV была отработана методика ПЦР для его идентификации. В дальнейшем данную методику использовали для визуализации ингибирования вируса. Для оценки ингибирования вируса к экстракту растения, зараженного вирусом, добавляли КП ЛО гриба *T. harzianum* Rifai в различных разведениях для получения конечной активности ЛО равной 5; 2,5; 1; 0,1; 0,05 и 0,025 Ед/мл. После выделяли РНК вируса с помощью наборов «Проба-НК» (Агродиагностика, Россия) и проводили ПЦР с обратной транскрипцией, согласно ранее отработанной методике. Результаты оценивали с помощью электрофореза.

Штамм гриба *Trichoderma harzianum* Rifai, продуцента ЛО, депонирован в Коллекции промышленных микроорганизмов ВНИИ генетики под №F-180. КП ЛО гриба *T. harzianum* Rifai №F-180 был предоставлен сотрудниками кафедры биохимии РУДН. Зараженные APMoV растения были получены из коллекции лаборатории вирусологии ФГБУ «ВНИИГР».

Результаты и обсуждение. При исследовании ингибирующего действия ЛО в отношении APMoV отмечали подавление вируса ферментом с активностью 0,25 Ед/мл и выше, что совпадало с концентрацией ингибирования вируса кольцевой пятнистости табака (TRSV). При сравнении результатов можно предположить зависимость ингибирования от аминокислотного состава вирусных белков.

Выводы. КП ЛО гриба *T. harzianum* Rifai штамм №F-180 оказывает ингибирующее действие на фитопатогенные микроорганизмы. Данный эффект L-лизин-α-оксидазы, показанный на растительных моделях, доказывает широкий спектр действия фермента и должен быть опробован более широко возбудителей болезней животных и человека.

At the Department of Biochemistry named after Dr. T.T. Berezov for many years doing researches of L-lysine- α -oxidase (LO) - antitumor enzyme of *Trichoderma harzianum* Rifai strain F-180. This enzyme is an inhibitor of various human viral infections, such as *Herpes simplex virus* type I (Patent of Russian Federation number 2022012, 1994) and HIV (Patent of Russian Federation number 2022011, 1994).

Andean potato mottle virus (APMoV) is a quarantine plant pathogenic virus for the Russian Federation. It is distributed in the highlands of the Andes in Chile, Ecuador and Peru, as well as in Brazil. Affects mainly potatoes, eggplant and some other solanaceous crops.

Previous studies have demonstrated the activity of the liquid culture concentrate (LCC) contains enzyme LO against *Impatiens necrotic spot virus* (INSV) (Shneyder et al., 2013 and 2014) and *Acidovorax citrulli* (Karimova et al., 2014). It was determine enzyme concentration at which inhibition occur INSV and TRSV.

The aim of this study is evaluation of the inhibitory effect of the LCC contains enzyme LO on plant viruses and testing it on the example of *Andean potato mottle virus* on the plant.

Materials and methods. To develop a method for the determination of antiviral activity of LO against APMoV PCR test to detect virus was designed. Subsequently, this technique was used for visualization of viral inhibition. To evaluate the inhibition of the APMoV, LCC of fungus *T. harzianum* Rifai in various dilutions with a final activities of LO equal to 5; 2.5; 1; 0.1; 0.05, and 0.025 U/ml was added to the plant extracts infected with a virus. After that RNA of virus was extracted using a commercial PCR-kit "Proba-NK" (Agrodiagnostika, Russia) and performed RT-PCR according to the method as mentioned above. The results were visualized by gel electrophoresis.

The strain of the fungus *Trichoderma harzianum* Rifai, that produces LO, deposited in the Collection of the Russian Federation State Research Institute of Genetics and Selection of Industrial Microorganisms and has number F-180.

LCC of *T. harzianum* Rifai F-180 was provided from the Department of Biochemistry of People's Friendship University of Russia. Plants infected by APMoV were obtained from the collection of the laboratory of virology of All-Russian plant quarantine centre.

Results and discussion. In studying the inhibitory effect of LO against APMoV observed inhibition of virus of enzyme with activity of 0.25 U/ml or higher, that coincides with the previous experiments with *Tobacco ringspot virus* (TRSV). By comparing the results it can be assumed dependent of inhibition by the amino acid composition of viral proteins.

Conclusions. LCC of fungus *T. harzianum* Rifai strain F-180 that contains enzyme LO has an inhibitory activity on the phytopathogenic microorganisms. This effect is shown on plant models demonstrates broad coverage of activity of the enzyme and should be more extensively tested on the pathogens of animals and human.

АНТИМИКРОБНОЕ ДЕЙСТВИЕ НОВОГО ПОЛИМЕРНОГО СОЕДИНЕНИЯ, МОДИФИЦИРОВАННОГО ПЕРЕКИСЬЮ ВОДОРОДА

Шуршалова Н.Ф.¹, Джалапакова А.Е.¹, Нецаева О.В.², Заярский Д.А.³

¹ Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского; ² Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского; ³ Саратовский государственный технический университет им. Гагарина Ю.А., Саратов, Россия

ANTIMICROBIAL ACTION OF THE POLYMERIC COMPOUND MODIFIED BY HYDROGEN PEROXIDE

Shurshalova N.F.¹, Dzhapalokova A.E.¹, Nechaeva O.V.², Zayrskiy D.A.³

¹Saratov State University, ²Saratov State Medical University, ³Saratov State Technical University, Saratov, Russia

Цель работы – изучение антимикробной активности полимерного соединения – полиазолидинаммония, модифицированного гидрат-ионами йода, а также его активированной формы с раствором перекиси водорода, в отношении стандартных штаммов грамотрицательных условно-патогенных бактерий *Escherichia coli* 113-13 и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Материалы и методы. Изучали водорастворимый полимер полиазолидинаммоний, модифицированный гидрат-ионами йода (ПААГ) с молекулярной массой 100-200 кДа IV класса токсичности.

Для активации к раствору ПААГ добавляли различные концентрации раствора перекиси водорода из расчета 1:100.

Результаты. ПААГ проявил антимикробную активность в отношении грамотрицательных бактерий, однако в отношении *P. aeruginosa* все рабочие концентрации полимера в интервале от 500 до 1000 мкг/мл характеризовались бактериостатическим характером действия, а для *E. coli* показатели минимальной бактерицидной концентрации (МБК) полимера составили 250 мкг/мл. При активации ПААГ раствором перекиси водорода наблюдали резкое возрастание активности полимера в отношении грамотрицательных бактерий при более низких концентрациях от 16 до 32 мкг/мл, независимо от концентрации H₂O₂. Низкая активность ПААГ в отношении грамотрицательных бактерий, вероятно, связана с особенностями строения их клеточной стенки, поскольку через пориновые каналы могут проникать только химические соединения с определенной структурой и молекулярной массой. Введенная в состав препарата перекись водорода играет роль катализатора, который приводит к разрыву связей в полимерной цепочке и активации гидрат-ионов йода, что способствует повышению антимикробной активности.

Заключение. Полученные нами результаты дают возможность рассматривать ПААГ, активированный раствором перекиси водорода, в качестве эффективного нетоксичного антимикробного средства широкого спектра действия для борьбы с возбудителями инфекционных заболеваний.

The aim of the research was to study the antimicrobial activity of a polymer compound – poly azolidine ammonium modified by hydrate iodine ions as well as its activated form with a hydrogen peroxide solution against standard strains of gram-negative bacteria *Escherichia coli* 113-13 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Materials and methods. The water-soluble polymer poly azolidine ammonium modified by hydrate iodine ions (PAGE) with a molecular weight of 100-200 kDa class IV toxicity was studied. The various concentrations of hydrogen peroxide solution to activate the PAGE solution at the rate of 1: 100 were added.

Results. PAGE showed antimicrobial activity against Gram-negative bacteria, but against *P. aeruginosa* all working concentration of polymer in the range from 500 to 1000 mcg/ml were characterized by the nature of bacteriostatic action, and indicators for *E. coli* minimum bactericidal concentration (MBC) of the polymer amounted to 250 mcg/ml. When activated PAGE by hydrogen peroxide solution a sharp increase in activity against gram polymer bacteria at lower concentrations from 16 to 32 mcg/ml, regardless of the concentration of H₂O₂ was observed. The low activity against Gram-PAGE bacteria is probably due to structural features of their cell walls as only the chemical compound having a particular structure and molecular weight may penetrate through porin channels. Hydrogen peroxide being input in the preparation structure plays a role of a catalyst, which leads to rupture bonds in the polymer chain and the activation of hydrate iodine ions, thereby increasing the antimicrobial activity.

Conclusion. Our results allow considering PAGE, activated by hydrogen peroxide, as an effective nontoxic antimicrobial agent against pathogens of the disease.

НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ ОБЕСПЕЧЕНИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ СТАБИЛЬНОСТИ РЫБНОЙ ПРОДУКЦИИ ПРИ ХРАНЕНИИ

¹Щедрина Н.А., ²Карцев В.В., ¹Одегова Н.В.

¹ Научно-исследовательский и проектно-конструкторский институт по развитию и эксплуатации флота» (АО «Гипрорыбфлот»); ² Северо-Западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

SOME QUESTIONS OF MICROBIOLOGICAL STABILITY OF FISH PRODUCTION AT STORAGE

¹Schedrina N.A., ²Kartsev V.V., ¹Odegova N.V.

¹ Joint Stock Company «GIPRORYBFLOT»; ² North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

В связи с тем, что продовольственное сырье водного происхождения и пищевые продукты, вырабатываемые из него, относят к категории скоропортящихся, вопросы микробиологической стабильности этих продуктов являются весьма актуальными.

Цель – изучение уровня бактериальной обсемененности некоторых видов пищевой продукции из рыбы и не рыбных объектов про-

мысла, не подвергнутых по ходу изготовления термической обработке.

Материалы и методы. Микробиологические исследования образцов рыбной продукции, доставленных с рыбоперерабатывающих предприятий и приобретенных в торговой сети Санкт-Петербурга, проводили на соответствие анализируемых продуктов гигиеническим требованиям, регламентируемым СанПиН 2.3.2.1078-01 и Технического регламента Таможенного союза 021/2011 «О безопасности пищевой продукции».

Результаты. В отдельных пробах рыбы соленой и мало соленой величина количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ), КОЕ/г, достигала достаточно высокого уровня, но не превышала регламентируемых значений.

Высокий уровень содержания дрожжей наблюдали в 52,5% анализируемых проб пресервов с добавлением масла. В пресервах пряного посола доля неблагоприятных по этому показателю образцов продукции была ниже (около 22%), что можно объяснить присутствием в данном виде пресервов уксусной кислоты, угнетающей развитие дрожжевых грибов и способствующей стабилизации этих продуктов в процессе хранения.

Так как отдельные виды дрожжеподобных грибов могут вызвать заболевания у людей с ослабленной иммунной системой, был разработан Перечень санитарно-гигиенических мер, направленных на снижение рисков контаминации сырья, полуфабриката, пищевых компонентов и готовой продукции по ходу технологического процесса.

Заключение. Уровень содержания дрожжеподобных грибов в некоторых видах исследованной продукции варьирует в зависимости от характера соусов и заливок, а также различных пищевых компонентов, входящих в их рецептуру. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости продолжения исследований в части оценки влияния различных факторов технологической цепи производства на показатели качества и безопасности пищевой продукции из водных биоресурсов, не подвергнутых по ходу изготовления термической обработке.

Due to the fact that food raw materials of aquatic origin and foods manufactured from them are rated as perishables, issues of microbiological stability of these products are quite urgent.

Purpose was an investigation of bacterial contamination level of some kinds of production from fish and non-fish industry objects which has not been heat-treated in the production process.

Materials and methods. Fish production specimen obtained from fish-processing enterprises and purchased in St. Petersburg food store have been checked for compliance to hygienic requirements regulated by SanPiN 2.3.2.1078-01 and Technical Regulation of Customs Union 021/2011 "On the Safety of Foods".

Results. Total viable count of microorganisms expressed in CFU/g, reached a sufficiently high level but exceeded not regulated values in individual salted and mildly salted fish samples.

High level of content of yeasts has been observed in 52,5% of analysed samples of preserves with addition of vegetable oil. Proportion of production samples unsafe by the index in preserves from spicy salted fish has been lower (about 22%), it may be accounted for presence in this kind of preserves of acetic acid inhibiting growth of yeast fungi and favouring a stabilization of these products in the storage process.

As some species of yeast-like fungi may cause diseases in people with weakened immune system a List of Sanitary and Hygienic Measures Aimed at Decrease of Contamination Risks for Raw Materials, Half-Finished Product, Food Ingredients and Finished Production along the Process was worked out.

Conclusion. Level of content of yeast-like fungi in some kinds of tested production varies depending on type of sauces and fillings and also on various accessory food ingredients. The findings give evidence of a need for a continuation of investigations in respect of evaluation of influence of various factors upon quality and safety indices of foods from water bioresources which has not been heat-treated in the production process.

ВЫЯВЛЕНИЕ МУТАЦИЙ УСТОЙЧИВОСТИ К МАКРОЛИДАМ В ГЕНЕ 23S РРНК *MYCOPLASMA PNEUMONIAE* С ПОМОЩЬЮ ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

Эйдельштейн И.А.¹, Эйдельштейн М.В.¹, Романов А. В.¹, Рачина С.А.¹, Яцышина С.Б.², Раковская И.В.³, Козлов Р.С.¹

¹ НИИ антимикробной химиотерапии СГМА; ² Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Референс-центр по мониторингу за возбудителями верхних и нижних дыхательных путей; ³ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи РАМН, Россия

DETECTION OF MUTATIONS OF RESISTANCE TO MACROLIDES IN 23S RRNA GENE OF *MYCOPLASMA PNEUMONIAE* BY PCR IN REAL TIME

Eijdelstein I.A.¹, Eijdelstein M.V.¹, Romanov A.V.¹, Rachina S. A.¹, Yatsyshina S.B.², Rakovskaya I.V.³, Kozlov R.S.¹

¹ Institute of antimicrobial chemotherapy SSMA; ² Central research Institute of epidemiology of Rosпотребнадзор, Reference centre for monitoring pathogens of the upper and lower respiratory tract; ³ Institute of epidemiology and Microbiology named after N. F. Gamaleya RAMS, Russia

Mycoplasma pneumoniae – распространенный возбудитель заболеваний респираторного тракта. В последнее время в зарубежных публикациях авторы отмечают появление и распространение устойчивости *M. pneumoniae* к макролидным антибиотикам, которая связана с мутациями в гене 23S рРНК, главным образом, в позициях 2063, 2064 и 2617. Выявление соответствующих однонуклеотидных замен позволяет эффективно предсказать фенотип устойчивости к макролидам, однако используемые с этой целью методы являются трудоемкими и дорогостоящими. В настоящее время данные о распространенности и механизмах устойчивости к макролидам у штаммов *M. pneumoniae* в Российской Федерации отсутствуют. Настоящее исследование посвящено разработке и валидации нового метода определения мутаций, ассоциированных с устойчивостью к макролидам у *M. pneumoniae*, а также его использованию для анализа клинических образцов, полученных от 146 пациентов с инфекциями нижних дыхательных путей, вызванными *M. pneumoniae*, в трех регионах РФ. Показана возможность выявления и дифференциации различных мутаций в позициях 2063, 2064 и 2617 гена 23S рРНК в формате однопробирочной мультиплексной ПЦР в режиме реального времени с последующим анализом кривых плавления флуоресцентно-меченых зондов. При исследовании клинических образцов во всех случаях обнаружили последовательности 23S рДНК *M. pneumoniae* «дикого типа», характерные для фенотипа чувствительности к макролидам.

ОСОБЕННОСТИ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЭКССУДАТИВНЫХ МИКОЗОВ ГЛАДКОЙ И ВОЛОСИСТОЙ КОЖИ

Яковлев А.Б.

Учебно-научный медицинский центр УД Президента РФ, Москва, Россия

PECULIARITIES OF CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTICS OF EXUDATIVE MYCOSES OF THE SKIN AND SCALP

Yakovlev A.B.

Educational-scientific medical centre of President Administration RF, Moscow, Russia

Микроспория и трихофития – основные микозы детского возраста; взрослые составляют 15-20% от общего числа регистрируемых случаев. Частота экссудативных форм обоих «трихомикозов» составляет не менее 20% от общего количества регистрируемых случаев этих заболеваний и не менее 45% – при распространенных формах (при наличии у больного не менее 20 очагов). Морфологические проявления, составляющие экссудативный компонент (ЭК): мокнутие, корко-чешуйки, отечные папулы, везикулы, пузыри (последние при микроспории и трихофитии выявляют редко).

Цель работы – изучить выявляемость мицелия патогенных грибов в КОН-тесте при наличии ЭК в очаге поражения.

Материалы и методы. Провели анализ результатов 316 исследований на грибы методом КОН, выполненных в стандартной клинической лаборатории КВД; из них 102 (32,3%) анализа были признаны выполненными при наличии выраженного ЭК.

Результаты. Было сформировано две группы исследований: 1 группа («сухая») – 214 анализов без ЭК, 2 группа 102 анализа при наличии ЭК. В 1 группе мицелий гриба обнаружили в 196 анализах (91,6%), во 2 группе – в 68 (66,6%). Морфологические элементы во 2-ой группе распределены следующим образом: мокнутия – 10 анализов, корко-чешуйки – 26, отечные папулы – 47, везикулы – 15, пузырьки – 4. Наибольшие затруднения отмечали при наличии мокнутия (грибы выявляли только в 2 анализах из 10) и везикул-пузырей (положительны 7 из 19 анализов), наименьшие – при отечных папулах (35 из 47).

Выводы. 1) Наличие ЭК не менее чем на 25% снижает чувствительность КОН-теста как метода диагностики, т.е. для исследования на грибы следует выбирать сухие участки с шелушением без ЭК. 2) В соскоб с гладкой кожи обязательно должны попасть пушковые волосы, которые в очагах поражения при давности заболевания больше 7-9 суток оказываются пораженными в 80% случаев – это повышает выявляемость гриба, несмотря на ЭК. 3) Прием с заклеиванием очага пластырем следует выполнять с двухслойной индифферентной марлевой прокладкой, которая в течение 12-18 часов и подсушит очаг, и создаст более приемлемые условия для обнаружения гриба (ни при каких обстоятельствах не следует пользоваться бактерицидными пластырями, и пластырь не должен касаться экссудативного очага!). 4) При отрицательном результате КОН-теста следует выполнять повторные исследования на грибы до 3 раз.

СТРУКТУРА ГЕНОТИПОВ ВИРУСА ГЕПАТИТА С У ИНОСТРАННЫХ ГРАЖДАН (МИГРАНТОВ), ПРИБЫВШИХ В МОСКОВСКУЮ ОБЛАСТЬ

Ярош Л.В., Кузин С.Н., Семенов Т.А.

Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф.Гамалеи МЗ РФ, Москва Россия

THE STRUCTURE OF HEPATITIS C VIRUS GENOTYPES AMONG FOREIGN CITIZENS (MIGRANTS) IN THE MOSCOW REGION

Yarosh L.V., Kuzin S.N., Semenenko T.A.

Gamaleya Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology, Moscow Russia

Вирус гепатита С (ВГС) характеризуется высокой генетической вариабельностью, его генотипирование направлено на решение эпидемиологических задач, которые включают генетическую характеристику вирусов, циркулирующих на конкретной территории, определение путей передачи и выявление закономерностей распределения ВГС в популяции.

Цель исследования – изучить распределение генотипов ВГС среди иностранных граждан, прибывших в Московскую область для осуществления трудовой деятельности.

Материалы и методы. В исследование включены 1027 образцов сывороток крови, полученных от мигрантов (средний возраст – 34,5±8,9 лет) в 2012-2014 гг. Гражданство Украины имели 308 человек (30,0%), Узбекистана – 187 (18,2%), Молдавии – 162 (15,8%), Таджикистана – 127 (12,4%), Армении – 86 (8,4%), Республики Беларусь – 41(4,0%). Граждане 6 стран (Азербайджан, Абхазия, Грузия, Казахстан, Киргизия и Туркмения) составили 11,3% (116 человек) от общего числа мигрантов. Серологические (ИФА) и молекулярно-биологические (ОТ-ПЦР) исследования выполняли с использованием коммерческих тест-систем ЗАО «ВекторБест», (Россия).

Результаты. Из 1027 обследованных лиц у 38 (3,7%) обнаружили антитела к ВГС (анти-ВГС), причем наиболее часто (в 16,7%, 5,6% и 5,0% случаев) – у граждан Туркмении, Молдовы и Грузии соответственно. При исследовании позитивных по анти-ВГС образцов сывороток крови в 57,9% случаев (22/38) отмечали РНК ВГС. Распределение генотипов ВГС оказалось следующим: генотип 1 выявили у 77,3% (17/22), а генотип 3 – у 22,7% (5/22) иностранных граждан.

Вывод. Среди иностранных граждан, прибывающих в Москов-

ский регион, преобладают лица, инфицированные ВГС генотипа 1 (77,3%), и имеет место незначительное увеличение доли лиц, инфицированных ВГС генотипа 3 (22,7%).

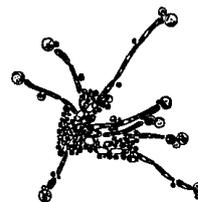
Background: Hepatitis C virus (HCV) is characterized by high genetic variability. It's genetic typing is directed on the decision of epidemiological problems which include the genetic characteristic of the viruses circulating in concrete territory, definition of transmission routes and revealing the patterns of hepatitis C prevalence in population.

Objective: to study distribution of HCV genotypes among the foreigners who arrived to Moscow region for labor activity.

Materials and methods. 1027 blood samples received in 2012-2014 from migrant workers (middle age–34,5±8,9 years) were tested. Ukraine citizenship had 308 persons (30,0%), Uzbekistan – 187 (18,2%), Moldova – 162 (15,8%), Tajikistan – 127 (12,4%), Armenia – 86 (8,4%), Byelorussia – 41 (4,0%). Citizens of 6 countries (Azerbaijan, Abkhazia, Georgia, Kazakhstan, Kirghizia and Turkmenia) have made 11,3% (116 persons) from total number of migrants. Serological (ELISA) and molecular-biological (OT-PCR) methods were carried out with commercial test systems of Joint-Stock Company "VectorBest" (Russia).

Results. From 1027 surveyed persons anti-HCV were detected in 38 (3,7%) cases and more frequently (in 16,7 %, 5,6 % and 5,0 %) – at citizens of Turkmenia, Moldova and Georgia, respectively. RNA HCV was determined in 57,9% (22/38) anti-HCV-positive cases. The distribution of HCV genotypes has turned out the following: genotype 1 – at 77,3% (17/22) and genotype 3 – at 22,7% (5/22) migrants.

Conclusion. Among the foreign citizens arriving to the Moscow region, the persons infected with genotype 1 HCV (77,3%) are predominate and the insignificant increase of the persons infected with genotype 3 HCV (22,7%) takes place.



Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (СЗГМУ)

Научно-исследовательский институт медицинской микологии им. П.Н.Кашкина (НИИ ММ) СЗГМИ им. И.И. Мечникова

Адрес редакции: 194291, Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, 1/28. Тел.: (812) 303-51-45, факс (812) 510-62-77
E-mail: mycobiota@szgmu.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@szgmu.ru. Manager of Editorial Office: E.S.Gukova

«ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ»

Пер. № 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 12.04.2015. Формат 60×90 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Times. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 20,5. Тираж 999 экз.