



ВСЕРОССИЙСКАЯ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

**ИННОВАЦИИ В МЕДИЦИНСКОЙ,
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ,
ВЕТЕРИНАРНОЙ И ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ
МИКРОБИОЛОГИИ**

*К 135-летию со дня рождения
академика В.М. Аристовского*

*Под редакцией профессора В.Б. Сбойчакова
и доктора медицинских наук В.В. Мальшева*

МАТЕРИАЛЫ

30-31 марта 2017 года



Санкт-Петербург
2017

Научное издание

Всероссийская научно-практическая конференция
**ИННОВАЦИИ В МЕДИЦИНСКОЙ, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ,
ВЕТЕРИНАРНОЙ И ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ**

*Под редакцией профессора В.Б. Сбойчакова
и доктора медицинских наук В.В. Мальшева*

Сборник материалов

СПб.: Изд-во «Человек и его здоровье», 2017. – 327 с.

Подготовлено на основе материалов, присланных авторами.

Редакция не несет ответственности за содержание опубликованной информации.

ВСЕРОССИЙСКАЯ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

**ИННОВАЦИИ В МЕДИЦИНСКОЙ,
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ,
ВЕТЕРИНАРНОЙ И ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ
МИКРОБИОЛОГИИ**

СТАТЬИ



В.М. АРИСТОВСКИЙ – ВЫДАЮЩИЙСЯ УЧЕНЫЙ ПЕРВОЙ ПОЛОВИНЫ XX ВЕКА

Сбойчаков В.Б.

*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*



Доктор медицины, профессор, академик АМН СССР,
генерал-майор медицинской службы В.М. Аристовский

Вячеслав Михайлович Аристовский родился 26 октября 1882 года в городе Чистополь Казанской губернии в семье священника. Связана ли эта фамилия с течением старообрядчества, основанным Санкт-Петербургским купцом Василием Кузьминым Аристовым в начале XIX века, или нет – представляется не вполне ясным.

В 1908 г. окончил медицинский факультет Казанского университета. В годы студенчества участвовал в революционном движении. Тогда это было весьма распространенным явлением. После окончания университета начал работу в лаборатории физиологической химии под руководством профессора А.А. Панормова.



В 1909 г. переходит в Бактериологический институт при родном университете, где получает основательную иммунологическую и микробиологическую подготовку под руководством его создателя проф. И.Г. Савченко (кстати ученика великого Мечникова). В 1912 г. В.М. Аристовский защищает докторскую диссертацию «Влияние реакции среды на специфический цитолиз».

В 1916 г. призван на военную службу и был назначен помощником заведующего особой лаборатории по изготовлению противобубонночумных препаратов Института экспериментальной медицины. Лаборатория располагалась на базе Кронштадтского форта «Александр I» («Чумной форт»). Здесь под руководством профессора Е.С. Лондона принял участие в изготовлении противостолбнячной антитоксической сыворотки для действующей армии. Вместе с шефом разработал метод выделения основной фракции столбнячного токсина путем последовательной обработки культуральной жидкости различными концентрациями серноокислого аммония. Удостоен воинского звания «майор медицинской службы» (коллежский асессор).

По возвращении в 1918 г. в Казань В.М. Аристовскому присваивается звание приват-доцента по бактериологии, а с 1920 г. он становится первым заведующим кафедрой микробиологии Казанского университета. В 1922-1923 гг. выполняет обязанности декана медицинского факультета университета. В 1925 г. по инициативе Вячеслава Михайловича организован институт эпидемиологии и микробиологии Наркомздрава ТАССР и до 1930 г. он был его директором, в 1930-32 гг. – его научным руководителем.

В 1930-32 гг. Вячеслав Михайлович одновременно заведовал кафедрой микробиологии Казанского института усовершенствования врачей. За этот период В.М. Аристовским было опубликовано 35, а его учениками - 120 научных работ.

В 1918 г. Аристовский получил звание приват-доцента, а в 1920 г. – профессора Казанского университета по кафедре микробиологии. Научная работа Аристовского выразилась в опубликовании им работ в русских и немецких специальных изданиях по вопросам бактериологии и иммунитета. Наиболее важными и оригинальными являются работы по изучению спирохет возвратного тифа и сифилиса; в частности, Аристовским и его учениками разработаны методы культивирования этих спирохет и впервые в России получены их чистые культуры.

В 1931 году был арестован и осужден ГПУ ТАССР. Обвинение было выдвинуто по статье 58. Приговор: взята подписка о невыезде. Реабилитирован только в феврале 1998 года. Известно также, что в 1938-1939 гг. в течение 14 месяцев В.М. Аристовский находился в заключении, после чего был освобожден. Однако причины и обстоятельства ареста не были выяснены, что продолжало оставаться источником легенд об этом периоде жизни ученого.

С 1932 года В.М. Аристовский тесно связал свою судьбу с Военно-медицинской академией, возглавив кафедру микробиологии, которой он руководил



по 1948 год. Последние 2 года жизни он числился профессором-консультантом Военно-медицинской академии.

В академии Вячеслав Михайлович разработал метод культивирования спирохет-возбудителей возвратного тифа и предложил прибор для культивирования анаэробов, названный в его честь аппаратом Аристовского. В годы Великой отечественной войны этот прибор успешно использовался для культивирования возбудителей анаэробных инфекций – газовой гангрены и столбняка.

Наибольшую известность, как в нашей стране, так и за рубежом имели его исследования по культивированию извитых бактерий. Продолжая исследования в области спирохетозов, Вячеслав Михайлович вел их на кафедре в трех направлениях: сифилис, возвратный тиф и лептоспироз. Интенсивное изучение лептоспироза было организовано из-за участвовавших эпидемических вспышек этой болезни в различных районах страны. В.М. Аристовский разработал питательную среду для культивирования спирохет возвратного тифа, названную его именем и на которой в течение 7 лет поддерживались чистая культура боррелий. Это был самый длительный эксперимент подобного рода. Данное исследование явилось методической предпосылкой для широких экспериментальных исследований по изучению патогенеза и иммунитета возвратного тифа.

Позднее В.М. Аристовский совместно с Р.Р. Гельтцером получил питательную среду для выращивания возбудителей сифилиса. Широкую известность также получила аллергическая кожная реакция на нуклеотиды гемолитического стрептококка, вошедшая в литературу под названием «реакция Аристовского-Фанкони».

Авторским коллективом во главе с В.М. Аристовским написан и дважды издан фундаментальный учебник «Медицинская микробиология» (1945, 1949), который был долгое время лучшим учебным руководством для студентов медицинских вузов и практических микробиологов.

6 августа 1938 года начальнику кафедры микробиологии Военно-медицинской академии В.М. Аристовскому присвоено звание бригадного врача, а уже в феврале 1943 года - звание генерал-майора медицинской службы. Академик АМН СССР (1945), Заслуженный деятель науки РСФСР (1945).

В.М. Аристовским создана крупнейшая советская школа микробиологов, иммунологов, спирохетологов. Среди его учеников были профессора М.И. Мастбаум, Б.Л. Мазур, Р. Р. Гельтцер, А.Ф. Агафонов, Г.Г. Кондратьев, З.Х. Каримова, И.А. Сироко.

Дочь В.М. Аристовского Татьяна (доктор биологических наук) известна как в России, так и за рубежом как создатель научной школы микробиологов-почвоведов, а его родной внук профессор Борис Васильевич Громов, поддерживая семейные традиции длительное время возглавлял кафедру микробиологии Ленинградского медицинского университета.



ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПЛАЗМЫ КРОВИ, НАПОЛНЕННОЙ ЛЕЙКОЦИТАМИ И ТРОМБОЦИТАМИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГНОЙНЫХ РАН

Андреев В.А., Сбойчаков В.Б., Нарольская Д.П., Суменова Д.К.
*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

На современном этапе развития медицины большую проблему в лечении инфекционных осложнений вносит проблема антибиотикорезистентности возбудителей. Это и проблема распространения метициллинрезистентных стафилококков, ванкомицинрезистентных энтерококков, грамотрицательных бактерий, вырабатывающих бета-лактамазы расширенного спектра и металло-бета-лактамазы, разрушающие карбапенемы. Все больше исследователей склоняется к тому, что развитие резистентности является неизбежным следствием широкого клинического применения антимикробных препаратов [3,4]. Это требует усилий не только по поиску новых препаратов и более эффективных путей их применения с целью снижения развития резистентности возбудителей, но и определения новых эффективных методов лечения инфекционных осложнений. Одним из таких методов лечения является использование антисептиков на основе нанотехнологий и раневых покрытий на их основе [1,2].

В этой связи весьма актуальным оказывается работа, целью которой явилось исследование влияния плазмы крови, наполненной лейкоцитами и тромбоцитами на улучшение регенерации инфицированных ран.

Материалы и методы. Исследование проводили на лабораторных животных, в качестве которых использовали 12 крыс массой 180-220 грамм. Животных разделили на две группы и нанесли стандартные раны, которые инфицировали суточной культурой *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) в стандартной дозе ($1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл. в соответствии со стандартом мутности 0,5 по МакФарланду). Для получения инфекционного процесса животным предварительно вводили преднизолон. В опытной группе инфицированные раны обкалывали плазмой, обогащенной лейкоцитами и тромбоцитами. В контрольной группе животных этого не делали. Развитие раневого процесса отслеживали по иммунологическим и микробиологическим показателям.

Результаты исследования показали значительно более благоприятное течение раневого процесса и более быстрое заживление ран в опытной группе животных по сравнению с контрольной. В опытной группе в раневом содержимом обнаруживалось значительно больше фагоцитирующих клеток. Особенно наглядно видно благоприятное течение раневого процесса в опытной группе по бактериологическим показателям. Так, на пятый день заражения количество ко-

лониеобразующих единиц возбудителя (КОЕ) в ране в опытной группе составляло $9,1 \times 10^4$ в 1 г, тогда как в контрольной группе этот показатель был выше почти на 2 порядка (Рис. 1).

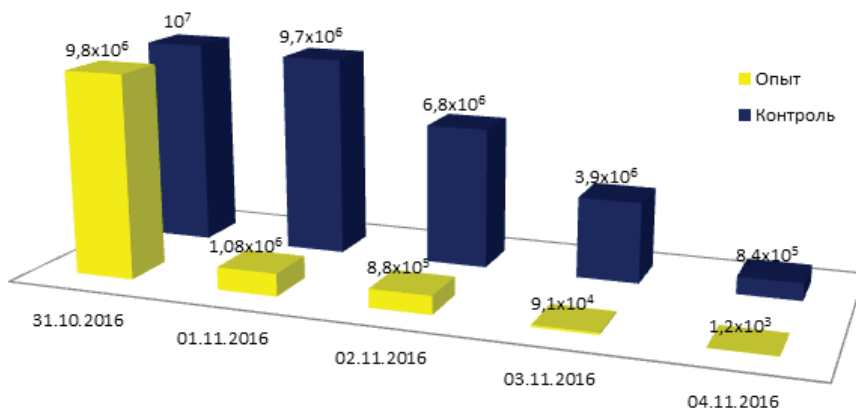


Рис.1.
Число КОЕ S.aureus в ранах в разные сроки исследования в опыте и контроле

Таким образом, применение композиции плазмы крови, обогащенной лейкоцитами и тромбоцитами инфицированных ран способствует их скорейшему заживлению.

Литература:

1. Андреев В.А., Попов В.А., Сбойчаков В.Б., Касанов К.Н. Перспективы использования наноантисептиков в гнойной хирургии//Проблемы медицинской микологии. - 2013. - Т.15. - №2. - С.53-54.
2. Андреев В.А., Касанов К.Н., Сбойчаков В.Б., Степанова Н.В. Сравнительная оценка некоторых антисептиков, полученных на основе нанотехнологий//Проблемы медицинской микологии. - 2015. - Т.17. - №3. с.56-60.
3. Василевский И.В., Скепьян Е.Н., Бочкарева Н.А. Проблема антибиотикорезистентности в общей врачебной практике//Мат. Республиканской научно-практической конференции врачей общей практики. – Минск, 2010. С. 18-20.



4. Сарсекеева А.С., Жумагалиева А.Н., Фролова М.Ю. и др. Проблема основных возбудителей внебольничной пневмонии и пути ее преодоления//Наука и здравоохранение. – 2014. - №1 – С.57-58.

САПРОНОЗЫ: ЭКОЛОГИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ, ЭПИДЕМИОЛОГИЯ, ИННОВАЦИИ В ТЕРМИНОЛОГИИ И СИСТЕМАТИЗАЦИИ ИНФЕКЦИЙ

Белов А.Б., Панин А.Л.

*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Сапронозные инфекции и их возбудители бактериальной природы представляют огромный интерес для широкого круга специалистов медико-биологического профиля, изучающих в рамках своих интересов инфекционные болезни человека, животных и растений. Эта тематика сегодня является передним краем борьбы с популяционной патологией биоты - от растений и позвоночных животных до человека как вида *Homo sapiens*. Прошло 60 лет после эпохальных исследований В.И. Терских на модели лептоспироза и других болезней людей и животных, по результатам которых он предложил термин «Сапронозы» для обозначения инфекций, вызываемых факультативными паразитами человека и животных [9]. В 1969 г. эксперты ВОЗ официально приняли этот термин в качестве названия 3-го класса инфекционных болезней человека (после антропонозов и зоонозов), подтвердив научный приоритет отечественной инфектологии. Однако до сих пор разобщенность исследований специалистов медико-биологических дисциплин не позволяет завершить формирование комплексной теории сапронозов, в которой особенно нуждаются врачи-инфектологи, паразитологи, ветеринары и фитопатологи. Отдавая дань признательности В.И. Терских и многим его последователям – Г.П. Сомову, Э.Н. Шляхову, В.Ю. Литвину, Э.И. Коренбергу и другим основоположникам изучения сапронозов, экологии их возбудителей, отметим необходимость интеграции новых знаний, полученных в разных сферах медико-биологических наук, в том числе с применением передовых технологий [1, 2, 4].

Действительно, современные данные, приводимые разными исследователями, уже давно не вписываются в трактовки первооткрывателей этой проблемы, так как возможности этиологической диагностики XXI века несопоставимы с прежними рутинными методами. Накопились очевидные противоречия по многим вопросам, касающимся фундаментальных теоретических положений эпидемиологии инфекционных болезней, паразитологии



и биологии, особенно на стыках медико-биологических наук. А ведь именно здесь совершаются открытия, обеспечивающие поступательное развитие науки, благодаря чередованию процессов дифференциации и интеграции накопленных знаний. По нашему мнению, такой период настал, и прорыв на новый уровень теоретического обобщения может произойти как раз в сфере идей и взглядов, касающихся общей проблемы сапронозов в комплексе медико-биологических наук [1, 2]. Однако в этом случае от некоторых устаревших концепций придется отказаться, что потребует определенного обновления взглядов на законы, формулировки, определения, ранее считавшиеся незыблемыми. Более того, возможно, понадобится уточнить или дополнить отдельные дефиниции великих классиков, ибо нет теорий и учений, которые абсолютно точны.

Ревизия эпидемиологической терминологии и классификаций инфекционных болезней и их возбудителей на предмет соответствия биологическим, философским, логическим постулатам и законам показывает, что пора объединить усилия заинтересованных специалистов для работы по решению поставленных вопросов. Это необходимо для формирования общей научной базы, на которой разные дисциплины будут строить свои концепции, не противореча общим положениям. Целесообразно уточнить, применительно к сапронозам, определения таких категорий, как резервуар, хозяева паразитов, механизмы, пути передачи и источники возбудителей инфекции, симбиотические системы, типы питания бактерий. Если этого не сделать, то мы вынуждены будем и дальше множить исключения из правил, несоответствия экологическим и эволюционным постулатам и ошибки, которые все равно придется когда-нибудь исправлять. Именно в классе сапронозов сконцентрированы все нерешенные вопросы и противоречия с устоявшимися рациональными взглядами на закономерности эпидемиологии антропонозов и зоонозов, экологию их возбудителей. Вероятно, этим объясняются расхождения с позициями представителей биологических наук, которые необходимо обсудить в целях решения спорных вопросов и уточнения терминологии и классификаций [1, 2, 4, 5, 7].

В целях согласования и дальнейшего использования единой теоретической основы для изучения проблемы сапронозов в медико-биологических науках предлагаем заинтересованным специалистам обсудить разработанные нами положения, которые можно считать инновационными:

- в основу эволюции многообразия жизни и патологии биоты на планете природой заложена способность инициирования симбиотических отношений при взаимодействии организмов для совместного выживания в лабильных условиях среды обитания. Причиной функционирования симбиотических систем является взаимодействие их сочленов, а условиями – «абиотические» природные и социальные факторы среды обитания симбионтов [7];



• кроме сапрофитизма и автотрофизма при нахождении в среде сапронозные бактерии используют другие типы питания – аменсализм, комменсализм, непатогенный и патогенный паразитизм, которые чередуются со сменой хозяев и симбиотических отношений. Последние являются основой для размножения и циркуляции факультативных паразитов в природе [4];

• резервуарами условно-патогенных факультативных паразитов биоты (потенциальных возбудителей сапронозов) считать только популяции биотических организмов (как это принято при антропонозах и зоонозах);

• хозяева бактерий-симбионтов и источники возбудителей являются представителями резервуаров возбудителей на всех биологических уровнях;

• внешняя (окружающая) среда может рассматриваться как совокупность «абиотических» элементов только в том случае, когда она не включает резервуарную биоту в данной среде – от цианобактерий и прокариотических водорослей (в совокупности, формирующих цианобактериальные маты) до теплокровных организмов (экологический подход) [6, 8];

• внешняя (окружающая) среда для возбудителей сапронозов – это «абиотические» субстраты, не являющиеся причиной симбиотических отношений; представители биоты могут ассоциироваться с элементами передачи возбудителей только при выполнении функции «механического» заражения и отсутствии функций резервуара в данных условиях;

• основные функции факторов внешней среды – формирование природных и социальных условий-регуляторов симбиотических отношений популяций бактерий и хозяев, а также прямое или опосредованное влияние на тех и других; участие в перемещениях бактерий в среде и резервуарах, в том числе посредством механизмов и путей передачи возбудителей [3, 5];

• пищевые (трофические) цепи и сети низших резервуарных организмов совпадают с факторами, путями и механизмами передачи бактерий в соответствующих резервуарах и среде; теплокровные организмы могут быть «биологическими тупиками» для большинства патогенных паразитов;

• экологическая классификация сапронозов человека на данном этапе должна дифференцировать эти инфекции на сапрозоонозы (большинство) и сапрозооантропонозы (холера, галофильные вибриозы, чума и др.);

• рассмотреть перспективы перехода на более рациональную экологическую классификацию всех инфекционных болезней человека по резервуарам возбудителей, содержащих классы фитонозов, фитозоонозов, зоонозов, зооантропонозов, антропонозов и фитозооантропонозов; соответственно обозначать их возбудителей.



Таким образом, если научное сообщество примет вышеперечисленные предложения, то за термином «Сапронозы», не отражающим всего разнообразия типов питания возбудителей и не охватывающим внутриклеточных паразитов (риккетсии, микоплазмы, хламидии и вирусы), останется только исторический смысл. Поэтому, понимая, что поднятые в публикации вопросы требуют длительного изучения, критического анализа и обсуждения в научных кругах, просим принимать это сообщение как инновационный посыл в будущее.

Литература:

1. Белов А.Б. Вероятные перспективы развития экологической классификации инфекционных болезней человека по резервуарам возбудителей (взгляд эпидемиолога). *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2013. № 1. С. 6 - 14.
2. Белов А.Б., Куликалова Е.С. Сапронозы: экология возбудителей, эпидемиология, терминология и систематика. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2016. № 1. С. 5 – 16.
3. Беляков В.Д., Голубев Д.Б., Каминский Г.Д., Тец В.В. Саморегуляция паразитарных систем. Ленинград, «Медицина». 1987. 240 с.
4. Коренберг Э.И. Природная очаговость болезней: к 70-летию теории. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2010. № 1. С. 5 – 9.
5. Литвин В.Ю., Сомов Г.П., Пушкарева В.И. Сапронозы и природная очаговость болезней. Актуальные проблемы природной очаговости болезней. Национальные приоритеты России. Омск, 2009. № 2. С. 11 - 12.
6. Панин А.Л., Богумильчик Е.А., Шаров А.Н., Власов Д.Ю. и др. Цианобактериальные маты как объекты мониторинга антарктических экосистем. *Вестн. СПбГУ*. 2013. Сер. 3, вып. 2. С. 3 - 11.
7. Панин А.Л., Сбойчаков В.Б., Белов А.Б. и др. Природно-техногенная очаговость инфекционных болезней на территории антарктических поселений. *Успехи современной биологии*, 2016. Т. 136. №. 1. С. 53 – 67.
8. Пушкарева В.И., Литвин В.Ю., Ермолаева С.А. Растения как резервуар и источник возбудителей пищевых инфекций. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2012. № 2. С. 10 – 20.
9. Терских В.И. Сапронозы (о болезнях людей и животных, вызываемых микробами, способными размножаться вне организма во внешней среде, являющейся для них местом обитания). *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 1958. № 8. С. 118 - 122.



ПРОБЛЕМНЫЕ ВОПРОСЫ САНИТАРНОЙ ОЦЕНКИ ЭПИДЕМИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ВОДЫ ХОЗЯЙСТВЕННО-ПИТЬЕВОГО ВОДОСНАБЖЕНИЯ

Бокарев М.А., Малышев В.В., Кузнецов С.М.
*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Вопрос о новом нормативном документе, регламентирующем требования к качеству питьевой воды взамен СанПиН 2.1.4.1074-01, обсуждается уже более пятнадцати лет. Основные его положения, касающиеся требований к эпидемической безопасности и химической безвредности воды, были сформулированы еще в начале XXI века. За прошедший период в них было внесено ряд существенных изменений и дополнений, обусловленных переоценкой влияния тех или иных веществ на человека, гармонизацией отечественной и европейской системы нормирования и др. В частности, в период с 2001 по 2007 гг. были пересмотрены нормативы содержания в воде 24 химических веществ, при этом 14 из них отнесены к канцерогенным. Для всех канцерогенов установлен санитарно-токсикологический признак вредности и 1-й класс опасности. Этим самым устранено существенное различие между нашей нормативной базой и европейской, а нормирование и ограничение поступления канцерогенов с питьевой водой отнесено к приоритетным направлениям.

Новый документ будет иметь статус Федерального Закона, что является выполнением требований Закона РФ «О техническом регулировании», и должно послужить целям его эффективного применения.

Как указывалось в докладе академика Ю.А. Рахманина и проф. Р.И. Михайловой, на одном из конгрессов «Экватэк», возрастание роли воды в обеспечении здоровья человека и нарастающая степень загрязнения поверхностных и подземных вод обуславливают расширение числа приоритетных показателей качества воды, подлежащих нормированию и контролю. Если ГОСТ 2874-82 регламентировал 28 показателей, СанПиН 2.1.4.1074-01 – 56 нормативов, то проект Федерального Закона – технического регламента «О безопасности питьевой воды» включает 88 показателей, в том числе 4 – по органолептическим показателям воды, 74 – по показателям химического состава, 8 – требования эпидемической безопасности, 2 – радиологических. Из числа обобщенных показателей химического состава воды исключены фенолы, СПАВ, нефтепродукты (они перенесены в общий список органических веществ), дополнительно включено содержание общего органического углерода, характеризующее суммарное количество органических веществ.



Серьезные изменения могут претерпеть показатели эпидбезопасности воды. Из их числа предполагается исключить термотолерантные колиформные бактерии. Вместо них основным показателем фекального загрязнения будет являться наличие кишечной палочки (*E. coli*), как это принято в европейских и других международных нормативах качества питьевой воды. Общие колиформные бактерии (ОКБ) представлены глюкозоположительной группой (ГКБ). Их преимущество перед прежними ОКБ (лактозоположительными) состоит в более широком спектре охватываемых непатогенных и условно патогенных бактерий (УПБ). В частности, ГКБ включает в себя (определяют) такие виды УПБ как гафния, органелла, провиденция, серрация, протей. Перечисленные штаммы ни входят в перечень видов, охватываемых ОКБ, в то же время их отсутствие – непременное условие эпидемической безопасности воды. Кроме того, ГКБ более устойчивы к действию хлора и дольше выживают в водной среде.

Все большее значение приобретают некультивируемые и условно-патогенные микроорганизмы в водной среде.

Некультивируемые и условно-патогенные формы микроорганизмов имеют большое социально-экономическое и санитарно-гигиеническое значение.

Некультивируемыми (НФ) называют такие формы микроорганизмов, которые в ответ на действие неблагоприятных факторов прекращают рост, но сохраняют жизнеспособность, а при улучшении условий культивирования возобновляют пролиферацию.

Некультивируемое состояние (НС) обнаружено у многих патогенных видов.

С целью решения вопроса о значении и истинных размерах распространения феномена НФ в объектах окружающей среды интенсивно изучаются индукторы НС и реверсии, но они остаются мало изученными.

В настоящее время известно около 45 видов микроорганизмов, относящихся к 30 родам, у которых обнаружено НС. 30 видов патогенны для человека, 15 видов условно-патогенны или являются эубионтами человека, животных или растений.

Среди бактерий, у которых обнаружено НС, есть возбудители таких грозных инфекций, как чума, холера, туляремии, легионеллез.

Более 60% видов, образующих НФ, грамотрицательны. Около 40% составляют бактерии, относящиеся к трем другим отделам царства Procariorata: грамположительные бактерии, микоплазмы и архебактерии. Эти факты указывают на универсальность некультивируемого состояния как общебиологического явления, расширяют первоначально сложившееся представление о спороподобном состоянии НФ и наглядно демонстрируют широкое распространение феномена в природе.

Данные литературы о скрининговых исследованиях окружающей среды, клинического материала на предмет присутствия в них НФ немногочисленны



и противоречивы. Для выявления НФ в организме или клиническом материале наиболее широко используются молекулярно-генетические методы: полимеразная цепная реакция (ПЦР) и ее различные модификации, лигазная цепная реакция (ЛЦР), техника гибридизации тотальной клеточной РНК, ПЦР с обратной транскриптазой. Преимущество указанных методов является их высокая чувствительность и специфичность.

В водных объектах окружающей среды НФ можно обнаружить с помощью флуоресцирующих моноклональных антител (МКА), что позволяет определить видовую принадлежность бактерий, но неинформативно в отношении жизнеспособности клеток. Применение магнитных сорбентов повышает чувствительность метода, а использование набора специфических моноклональных антител к стабильным и лабильным эпитопам липополисахарида дает возможность судить о потенциальной жизнеспособности НФ.

Перечисленные методы позволили выявить присутствие НФ патогенных бактерий в организме человека и животных, в продуктах питания, в объектах окружающей среды: в воде, в почве.

Высказано предположение, что температура $+0,5$ - $+7^{\circ}\text{C}$ является основным фактором, индуцирующим образование НФ, как это было показано для *Campylobacter jejuni*, *V. cholerae*. Переход в НС зависит не только от температуры культивирования, но и от вида микроорганизма, его физиологического состояния, сопутствующих факторов. *V. cholerae* eltor переходили в НС при благоприятной температуре (25°C), но в присутствии высокой концентрацией солей.

Даже незначительные вариации химического состава среды при оптимальной температуре могут индуцировать переход в НС. Так, например, при сравнении двух образцов питьевой воды, один из которых индуцировал образование НФ *Agrobacterium tumefaciens* и *Rhizobium meliloti*, было обнаружено, что образцы совпадали по 39 химическим элементам и отличались только содержанием меди. В пробе, которая положительно влияла на образование НФ, концентрация меди была в несколько раз выше.

Среди химических индукторов НС в отдельную группу следует выделить антибиотики, так как эти сведения имеют практическое значение.

В модельных экспериментах *in vivo* показан переход в НФ *E. coli* в присутствии ципрофлоксацина, *M. tuberculosis* - рифализила в комбинации с изониазидом.

Пролиферация может быть обратимо утрачена под влиянием концентраций хлора, применяемых для обеззараживания воды, в связи, с чем предлагается пересмотреть бактериологические критерии оценки качества питьевой воды.

Не менее значимыми, чем химические, являются физические факторы индукции НС. Сообщается о влиянии гамма-лучей, аэрации, кратковременного воздействия солнечной радиации в естественных условиях и в эксперименталь-



ных микрокосмах. Чередование световой и темновой фазы индуцировало переход в НС *S. typhimurium*.

Долгое время биологические индукторы НС оставались не известны. Но появились немногочисленные экспериментальные данные, свидетельствующие о важной роли биотических факторов в образовании НФ. *L. monocytogenes* в ассоциации с зелеными водорослями или в присутствии их экзометаболитов значительно быстрее переходили в НС, чем в контроле. Синезеленые водоросли и их экзометаболиты ускоряли образование НФ *Y. pseudotuberculosis*.

В экспериментах живые клетки *Scenedesmus quadricauda* и их экзометаболитов инициировали образование НФ *V. cholerae* O1 и O139. Разрушенные зеленые водоросли, культура *Spirulina platensis*, напротив, продлевали вегетативную фазу холерных вибрионов. Экспериментальное получение НФ бактерий в микрокосмах, содержащие биотические компоненты, подтверждает гипотезу о возможности сохранения различных возбудителей в объектах окружающей среды, в том числе, в ассоциации с фито- и зообионтами.

Накоплен экспериментальный материал, демонстрирующий способность НФ возобновлять рост в благоприятных условиях. Условия реверсии включают использование различных индукторов реверсии (физических, химических, биотических), но могут заключаться и только в отмене неблагоприятных воздействий, как, например, показано для микроорганизмов, подвергнутых воздействию гамма-лучей.

Среди физических факторов наиболее часто к реверсии *in vitro* приводит повышение температуры с 0,5-6°C до 20-22°C или до 37°C, кратковременный прогрев до 45°C. Быстрое увеличение КОЕ в микрокосмах рассматривается как подтверждение реверсии, а не возобновление роста нескольких выживших клеток.

Среди химических индукторов реверсии НФ известна группа соединений, разрушающих перекись водорода (антиоксиданты). К таким соединениям относят пируват натрия, каталазу, витамин Е. Их вводят непосредственно в микрокосмы в качестве протекторов или в состав питательных сред, предназначенных для реверсии. Это позволило получить реверсию *E. coli*, *V. parahaemolyticus*. На эффективность реверсии влияет химический состав среды и ее агрегатное состояние (предпочтительнее жидкие питательные среды).

Иногда единственно эффективный способ реверсии - это пассаж через восприимчивый организм. Так, например, рекультивация НФ патогенных штаммов сальмонелл при введении в организм чувствительных животных всегда приводила к положительному результату. Параллельная рекультивация тех же суспензий *in vitro* не давала положительных результатов.

Таким образом, анализ данных литературы показал широкое распространение феномена некультивируемости в природе. К образованию НФ могут



приводить разнообразные воздействия, как биотические, так и абиотические. Огромное влияние имеют факторы окружающей среды: температура, солнечная радиация, химический состав воды, наличие фито- и зообионтов. Характер и интенсивность этих воздействий определяют возможность реверсии НФ. Среди индукторов НС практически все абиотические факторы являются источниками свободных радикалов, которые обладают цитотоксическим действием. Вероятно, этим объясняется положительное действие антиоксидантов на возобновление деления. Иногда для реверсии требуется не только отмена неблагоприятного воздействия и добавление нейтрализаторов свободных радикалов, но и использование специфических индукторов реверсии: цитокинов, ростовых факторов. Одной из причин реверсии НФ бактерий в макроорганизме также могут быть антиоксидантные свойства его ферментов и наличие цитокинов. Но биотические индукторы реверсии имеют множественный характер стимуляции.

Широкое распространение НФ в природе, способность патогенных и условно-патогенных бактерий переходить в НС, индукция НФ антибиотиками обуславливают социально-экономическое и санитарно-гигиеническое значение некультивируемых бактерий.

Дополнительно в число паразитологических показателей включено определение ооцист криптоспоридий, что вызвано возросшим уровнем паразитарного загрязнения внешней среды и недостаточной барьерной функцией водопроводных сооружений при использовании хлорирования.

Самой значительной коррекции подвергнут раздел химической безвредности воды. Из числа контролируемых неорганических веществ исключены цинк, полифосфаты, активированная кремниевая кислота. Включены бром, литий, натрий, нитраты, бикарбонаты, сурьма, уран.

Впервые отечественный стандарт на воду включает значительный раздел нормируемых органических веществ. Если СанПиН 2.1.4.1074-01 контролировал только три представителя пестицидов (2,4-Д, ДДТ, линдан), то проект нового закона регламентирует содержание 37 органических компонентов. В состав определяемых включены 20 веществ I класса опасности (в т.ч. 14 – канцерогенов), 8 веществ II класса, 9 веществ III и IV класса опасности.

Следует отметить, что из 88 показателей в рабочую программу мониторинга качества воды включаются лишь те загрязнители, содержание которых выявляется на уровне более 0,5 ПДК. Полный анализ осуществляется 1 раз в год, а технологический определяется особенностями процесса получения и обработки воды.

Название нового закона отражает постепенное изменение концепции организации водоснабжения. В частности, поднимается вопрос о разработке нормативной базы для хозяйственно-бытовой воды.



Появились проекты разделения единых санитарных норм на требования к «воде водопроводной» и «воде улучшенного качества». Это вызвано, главным образом, экономическими причинами.

Главным требованием, которому должна отвечать водопроводная вода – это ее безопасность. Непосредственно же для питьевых целей должна подаваться вода, подвергнутая дополнительной обработке и кондиционированию с целью обеспечения ее физиологической полноценности и придания ей иных (дополнительных) полезных свойств.

Под безопасностью водопроводной воды понимается основанное на ее качественных характеристиках свойство не оказывать отрицательного влияния на здоровье, жизненные функции и состояние организма человека и животных как при кратковременном, так и долговременном ее употреблении в питьевых и гигиенических целях, а также при контакте человека с водой любой продолжительности.

Подобный подход даст возможность использовать широкий набор дополнительных способов и средств для улучшения полезных свойств воды.

АКТИВАЦИЯ ОЧАГОВ ТУЛЯРЕМИИ В УРАЛЬСКОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ

Боронина Л.Г.¹, Лахно Т.И.¹, Борзунов В.М.¹, Чмелёв С.А.²

¹Уральский государственный медицинский университет,
г. Екатеринбург,

²Департамент здравоохранения
Ханты-Мансийского автономного округа – Югры,
г. Ханты-Мансийск

Изучили особенности возникновения и диагностики случаев туляремии в Свердловской области и Ханты-мансийском автономном округе (ХМАО) в современных условиях. В 2005-2013 г.г диагностировано более 1100 случаев, возникли единичные, групповые случаи и вспышки туляремии. Туляремия протекала преимущественно в язвенно-некротической форме, для диагностики применялись аллергические пробы с тулярином и серологические тесты РА и РНГА, для профилактики – проводили иммунизацию.

Ключевые слова: туляремия; эпидемиология, микробиологическая диагностика.

Key words: tularemia; epidemiology, microbiology diagnostic, *Francisella tularensis*.



По данным ВОЗ за последние годы в мире зарегистрировано несколько десятков крупных вспышек инфекционных болезней, в том числе зоонозные, природно-очаговые инфекции бактериальной природы, такие как туляремия. Среди всех инфекционных заболеваний определенная часть представлена забытыми «возвращающимися» болезнями, заболеваемость которыми возросла в течение двух последних десятилетий [1].

Эпидемиологическое благополучие (обычно в РФ несколько десятков случаев туляремии в год) обеспечивается применением достаточно эффективной живой вакцины для иммунизации людей, проживающих на эндемичных территориях [4]. Возбудитель туляремии (*Francisella tularensis*) относится ко второй группе патогенности, выделение и идентификация проводится в специально оборудованных лабораториях. [5].

В этой связи, целью настоящей работы явилось определение актуальности туляремии в 2005-2013 г.г., используя, клиническую и микробиологическую диагностику, эпидемиологические принципы.

В Свердловской области летом 2005 г. случаи туляремии выявлены в Шалинском районе, когда заболело 58 человек, большая часть из которых оказались жителями Екатеринбурга, выезжавших на летний сезон в этот район. Во всех случаях была диагностирована ангинозно-бубонная форма. Вспышка связана с высокой численностью кровососущих насекомых, в частности слепней. У 29 человек диагноз был выявлен значительно позднее (через 3-5 недель) только по результатам серологического исследования. В Свердловской области в 2012-2013 гг. было зарегистрировано по одному случаю в поселках, являющимся пригородом Екатеринбурга.

Природный очаг туляремии в Ханты-Мансийском автономном округе пойменно-болотного типа. Несколько десятилетий назад заболевание было довольно распространено, но последние 30 лет официально диагноз «Туляремия» не регистрировался. Случай групповой заболеваемости произошел в 2007 году в Березовском районе, когда в течение 2-х недель заболело 22 человека. Летом 2013г. во время расследования причин язвенно-бубонной формы туляремии в ХМАО, пришли к выводу, что распространителями инфекции выступили домовые мыши, полевки, блохи и комары, водяные полевки. В наиболее часто люди заражаются после укуса инфицированной мошки или комара. По состоянию на 8 октября 2013 года число зарегистрированных случаев туляремии составляет 1014 человек, в том числе 156 детей до 17 лет. Среди заболевших жители г. Ханты-Мансийска – 967 человек, Ханты-Мансийского района – 37, из других городов региона-10, вахтовики из других регионов РФ - 6 человек.

Заболевание начиналось остро, проявилось в виде симптомов: сильные головные боли, повышенная температура до 38-40°C., обильный ночной пот, нарушения сна, болезненность, слабость, головокружение, мышечные боли, отсутствие аппетита, в редких случаях рвота, покраснение лица и слизистых глаз.



Лимфатические узлы увеличены, преимущественно подмышечные или шейные, малоблезненные. Увеличение лимфатических узлов появлялось не в первые дни клинических проявлений и сопровождалось нагноением и развитием опасных для жизни осложнений [2]. Во всех случаях возникновения групповой заболеваемости, как в 2005 г., так и позднее, этиология инфекции была поставлена поздно и подтверждена выявлением антител в РА с туляремийным диагностикомом. Диагноз туляремии был определен при проведении аллергических проб с тулярином. Причиной вспышки явилась совокупность природных факторов, а именно благоприятные условия для вылода гнуса в 2013 году (позднее жаркое лето), которые привели к обилию комаров и увеличению количества гонотрофических циклов, каждый из которых предполагает кровососание [5]. Существуют методы выявления специфических антител в крови в РА, РНГА: «Сыворотка диагностическая для РА, лиофилизат для микробиологических целей», «Диагностикум эритроцитарный туляремийный жидкий», «Тест–система диагностическая для выявления возбудителей туляремии в ИФА (из внешней среды)», «Иммуноглобулины диагностические флуоресцентные сухие для метода флуоресцирующих антител (МФА)», а так же «Комплект реагентов для ПЦР-амплификации ДНК возбудителя туляремии (*Francisella tularensis*) в биологическом материале (отделяемое из язв, пунктат из бубонов, мокрота, фекалии, биоптаты), материале животных в клещах, комарах и эктопаразитах, с смывах с предметов окружающей среды» [3].

Выводы. Активизация существующих природных очагов туляремии, привела к вспышечной заболеваемости в отдельных районах Свердловской области и Ханты-Мансийского округа в 2005-2013 гг. Туляремия протекала преимущественно в язвенно-некротической форме, для диагностики применялись аллергические пробы с тулярином и серологические тесты РА и РНГА. Причиной вспышки явилась совокупность природных факторов, отсутствие иммунитета у населения и не достаточная осведомленность о возможностях этиологической диагностики.

Литература:

1. Ананьина Ю. В. Природноочаговые бактериальные зоонозы: современные тенденции эпидемического проявления / Ю. В. Ананьина // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2002. – № 6. – С. 86-90.
2. Лучиев В. И. Туляремия / В. И. Лучиев, В. В. Никифоров, Б. И. Санин // Российский медицинский журнал. – 2009. – № 3. – С. 34-36.
3. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий территориального, регионального и фе-



- дерального уровня: методические указания 4.2.2939-11. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2011. – 50 с.
4. Порядок проведения профилактических прививок: методические указания 3.3.1889-04. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 21 с.
 5. Профилактика туляремии: санитарно-эпидемиологические правила 3.1.7.2642-10. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2010. – 11 с.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ КАЧЕСТВО ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И ДОКАЗАТЕЛЬСТВО ПРИМЕНИМОСТИ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДИК

Гунар О.В.

Научный центр экспертизы средств медицинского применения,
Москва

Резюме. Статья посвящена анализу качества лекарственных средств, прошедших лабораторную предрегистрационную экспертизу, выполняемую по заданию Минздрава России в лаборатории микробиологии, как одном из подразделений Испытательного Центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ НЦ ЭСМП МЗ РФ. Экспертами подтверждено высокое качество испытанных препаратов и фармацевтических субстанций по показателям «Стерильность» и «Микробиологическая чистота». За период 2014-2016 гг. брак среди 4935 серий составил 0,61%. Представлены действия экспертов для подтверждения применимости используемых микробиологических методик, т.е. их верификации. Обсуждаются параметры валидации микробиологических методов и критерии их оценки. Так, для количественных микробиологических методов определения микробиологической чистоты лекарственных средств необходимо рассчитать специфичность, чувствительность, правильность, прецизионность и предел количественного определения микроорганизмов. Правила проведения валидационных и верификационных исследований микробиологических методик нашли отражение в проекте ОФС «Валидация микробиологических методик», разработанном в лаборатории микробиологии с учетом международного опыта 2016 году и направленном в Центр Фармакопеи ФГБУ НЦ ЭСМП МЗ РФ на рассмотрение с целью дальнейшего утверждения в Государственной Фармакопее XIV издания в установленном порядке.



Ключевые слова: микробиологическое качество лекарственных средств, валидация/верификация микробиологических методов.

Key words: *microbiological quality of drug, validation/verification microbiological methods.*

Проблема качества лекарственных средств (ЛС) и применимости микробиологических методик испытания их качества достаточно остро стоит в настоящее время как на фармацевтических предприятиях, так и в контрольных и экспертных учреждениях Российской Федерации.

Государственная Фармакопея РФ XIII изд., функционирующая с 1 января 2016 г., утвердила только общую фармакопейную статью (ОФС) «Валидация аналитических методик».

В ведущих мировых фармакопеях (США, Европы) существуют статьи, регламентирующие параметры и критерии валидации микробиологических методик. В других нормативных документах ИСН [10,11], ВОЗ [12,13], Европейского Союза [3,5,8], США [6,7,9], России [2,4] также рассматривается подход к решению указанной проблемы. Однако, российские специалисты фармацевтической микробиологии продолжают искать свой индивидуальный подход, так как в ГФ РФ текущего издания подобной статьи нет.

О существующей проблеме свидетельствуют нормативные документы на ЛС, поступающие на лабораторную экспертизу в ФГБУ Научный центр экспертизы средств медицинского применения Минздрава России, в которых обоснование применимости микробиологических методик трактуется по-разному, а порой игнорируется.

Цель. Оценить качество лекарственных средств с учетом применимости микробиологических методов их испытания.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. Анализ качества лекарственных средств, прошедших лабораторную предрегистрационную экспертизу по микробиологическим показателям за последние 3 года.

2. Представление подхода к валидации/верификации микробиологических методик оценки качества лекарственных средств.

Материалы и методы. В лаборатории микробиологии ФГБУ НЦ ЭСМП Минздрава России за последние три года (2014-2016гг) экспертизу по показателям «Стерильность» и «Микробиологическая чистота» прошли 4935 серий отечественных и зарубежных ЛС, за исключением антибиотиков и иммунологических препаратов, анализ которых выполняли эксперты других лабораторий. Испытание качества обозначенных ЛС выполняли согласно методике, представленной в нормативной документации на конкретный объект или в соответствии с общими фармакопейными статьями «Стерильность» или «Микро-



биологическая чистота» действующего издания Государственной фармакопеи нашей страны.

Результаты и обсуждение. Результаты анализа микробиологической чистоты и стерильности испытанных ЛС представлены в таблице.

Таблица

Результаты анализа качества лекарственных средств по микробиологическим показателям на стадии лабораторной экспертизы

год	количество испытанных серий ЛС	количество забракованных серий ЛС		
		отечественных	Зарубежных	итого
2014	2000	9	3	12 (0,60%)
2015	1334	5	3	8 (0,60%)
2016	1601	6	4	10 (0,62%)
Всего	4935	20 (67%)	10 (33%)	30 (0,61%)

Из данных таблицы видно, что испытано значительное количество ЛС, причем большинство из них имели достаточно высокое качество по анализируемым показателям. Образцов, не соответствующих предъявляемым нормативной документацией требованиям, по рассматриваемым годам было менее 1%. Общее количество брака составило 0,61% (30 серий). Анализ забракованных ЛС показывает, что в основном не соответствовали требованиям нестерильные (87%) препараты и субстанции. При этом образцы отечественного производства браковались в 2 раза чаще поступивших в Россию из-за рубежа.

Среди контаминантов нестерильных ЛС выделяли аэробные бактерии, в особо редких случаях встречались бактерии семейства Enterobacteriaceae. Преобладающими (более 50%) изолятами за рассматриваемый период являлись плесневые грибы, что показывает значимость выполняемой работы из-за повышенной опасности грибов для здоровья пациентов, получающих ЛС, содержащих подобного рода контаминанты.

При выявлении образцов, качество которых не укладывалось в допустимые пределы по содержанию микроорганизмов, эксперты лаборатории микробиологии проводили расследование и, наряду с протоколом испытаний (аналитическим листом), оформляли документальное подтверждение правильности своей работы:

- результаты микробиологического мониторинга воздуха чистого помещения и рабочих поверхностей используемого оборудования, рук персонала;
- копии листов работы бактерицидных ламп в подготовительный к испытанию период;



- копии листов генеральной и периодической уборки рабочих помещений;
- сертификаты качества питательных сред производителя и протоколы контроля их оценки в лаборатории;
- листы регистрации работы инкубаторов, ламинарного шкафа, весов в случае использования.

Применимость микробиологических методик в данном случае трактовалась как верификация утвержденных Фармакопеей методов и выполнялась путем доказательства отсутствия антимикробного действия ЛС при подтверждении достоверности использования метода посева (прямого или мембранной фильтрации).

Поскольку верификация представляет собой упрощенное, адаптированное валидационное исследование, т.е. документальное подтверждение того, что применяемый метод пригоден для целей получения достоверных результатов анализа микробиологического качества ЛС, по результатам эксперт заполнял лист регистрации испытания с указанием:

- оборудования с действующими сроками поверки/аттестации,
- используемых проконтролированных питательных сред/реактивов,
- тест-штаммов микроорганизмов, регулярно подтверждаемого вида и не более 5 пассажа.

Таким образом, процедура верификации воспроизводила предполагаемую методику анализа образца: способ пробоподготовки, питательные среды и растворы, количество промывной жидкости в случае использования метода мембранной фильтрации, условия инкубации посевов и т.д. Размер образца, используемый при верификации фармакопейных методик, имел ту же массу (объем), что при стандартном анализе. В ходе верификационного исследования определяли, оказывают ли на возможности метода и получаемые результаты такие факторы, как происхождение образца, питательная среда, условия проведения испытания и др.

Важно отметить, что использование невалидированных методов микробиологического анализа, например, по данным инспекционных проверок FDA, США является одним из существенных нарушений в работе контрольных лабораторий [1].

В целом, процесс валидации включает в себя обработку экспериментальных данных и расчет валидационных параметров (рабочих характеристик), которые позволяют охарактеризовать достоверность методики. К таким параметрам относятся правильность, прецизионность, специфичность, пределы обнаружения и количественного определения, линейность, устойчивость (надежность). На основании полученных данных можно подтвердить рабочий диапазон метода. Выбор валидационных параметров, оцениваемых в ходе исследований, определяется целевым назначением методики. Различают качественные,



количественные микробиологические методы, а также методы идентификации микроорганизмов.

Результат использования методов качественного определения в фармацевтической микробиологии выражается словами «обнаружено» или «не обнаружено». Процедуры подтверждения и идентификации конкретного микроорганизма также подлежат валидации, при которой определяют, насколько возможно, специфичность, правильность, предел обнаружения.

Для методов количественного определения оценивают такие показатели как специфичность, чувствительность, правильность, прецизионность и предел количественного определения.

При верификации фармакопейных методов анализа набор определяемых параметров может быть уменьшен, при условии его достаточности для подтверждения адекватности методики.

В общем случае задачей валидационного исследования является сравнение результатов, полученных испытуемым и референсным (фармакопейным) методами. Однако следует принимать во внимание, что каждый метод имеет свои особенности и ограничения и поэтому требует индивидуального подхода к разработке процедуры его валидации и установлению критериев приемлемости. Например, особого внимания заслуживают количественные методы определения микроорганизмов, не позволяющие разделять жизнеспособные и нежизнеспособные клетки. Полученное с помощью подобных методик значение может быть существенно выше, чем определенное традиционными способами.

Правила проведения валидационных и верификационных исследований микробиологических методик нашли отражение в проекте ОФС «Валидация микробиологических методик», который разработан в 2016 году и направлен в Центр Фармакопеи ФГБУ НЦ ЭСМП МЗ РФ на рассмотрение с целью дальнейшего утверждения в Государственной Фармакопее XIV издания в установленном порядке.

Выводы. 1. Анализ качества лекарственных средств, прошедших лабораторную предрегистрационную экспертную оценку по микробиологическим показателям за последние три года, показал наличие менее 1% брака от изученного объема 4935 серий.

2. Верификация микробиологических методик, выполняемая в процессе каждого испытания, представляет собой адаптированное к условиям конкретной лаборатории валидационное исследование, подтверждающее то, что применяемый микробиологический метод пригоден для получения достоверных и воспроизводимых результатов.



3. Правила проведения валидации / верификации микробиологических методов, включающие параметры и критерии их оценки, впервые разработанные в лаборатории микробиологии ФГБУ НЦ ЭСМП МЗ РФ, включены в проект ОФС «Валидация микробиологических методик» для Государственной фармакопеи XIV изд.

Литература:

1. Береговых, В.В. Валидация в производстве лекарственных средств. / В.В. Береговых, Н.В.Пятигорская, В.В.Беляев, Ж.И. Аладьшиева, А.П. Мешковский – М.: Издательский дом «Русский врач», 2010. – 286 с
2. МУ 64-04-001-2002. Производство лекарственных средств. Валидация. Основные положения. Утв. распоряжением Минпромнауки РФ от 15.04.2003 N P-13.
3. Надлежащая производственная практика лекарственных средств. Активные фармацевтические ингредиенты. Готовые лекарственные средства. Руководства по качеству. Рекомендации PIC/S // Под ред. Н.А. Ляпунова, В.А. Загория, В.П. Георгиевского, Е.П. Безуглой.- Киев: Морион, 2001.
4. Правила организации производства и контроля качества лекарственных средств. Утв. приказом Министерства промышленности и торговли РФ от 14 июня 2013 г. N 916.
5. Annex 15: Qualification and Validation / Volume 4 EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use / EudraLex. The Rules Governing Medicinal Products in the European Union. - European commission health and consumer directorate – general, Brussels, 2014. – 17 p.
6. ASTM E2500–13 Standard Guide for Specification, Design, and Verification of Pharmaceutical and Biopharmaceutical Manufacturing Systems and Equipment. – ASTM, USA, 2013. – 5 p.
7. Code of Federal Regulations (CFR) Title 21, 10 ed., 2010, Vol. 4, Chapter 1, sec. 211.194. P. 162-163
8. Commission of the European Communities. Analytical Validation (1989). Guidelines on the Quality, Safety and Efficacy of Medicinal Products for Human Use, The Rules Governing Medicinal Products in the European Community, Volume III (addendum July 1990).
9. GHTF/SG3/N99-10:2004 Quality Management Systems – Process Validation Guidance. - The Global Harmonization Task Force (GHTF), 2004. – 36 p.
10. ICH Harmonised Tripartite Guideline: Validation of analytical procedures: text and methodology Q2 // International Conference on Harmonisation. – 1999. – 13 p.



11. ICH Harmonised Tripartite Guideline. The Common Technical Document for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use. - Brussel, 2002.
12. Supplementary guidelines on good manufacturing practices: validation. Annex 4. WHO Technical Report Series, No. 937, 2006 – 72 p.
13. WHO guide to good manufacturing practice (GMP) requirements. Part 2: Validation // WHO. - Geneva, 1999.

СПЕКТР АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ШТАММОВ ПРИ ИНФЕКЦИЯХ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

Каримов И.Ф.¹, Акжигитов А.С.²

¹Оренбургский государственный университет,

²Центр инноваций и наукоемких технологий,

г. Оренбург

Резюме. Изучен спектр устойчивости к антибиотикам среди бактерий трех семейств, ведущих к развитию инфекций мочевыводящих путей. Проанализирована общность действия различных антибиотиков на основе корреляционных связей. Выявлено число мультирезистентных штаммов среди рассматриваемых групп бактерий. Определено, что наиболее эффективным антимикробным препаратом оказался имипинем, а наименее эффективным – азитромицин. При этом для преодоления антибиотикорезистентности рекомендуется использовать сочетание имипинема и нетилмицина.

Ключевые слова: антибиотикорезистентность, инфекции мочевыводящих путей, энтеробактерии, стафилококки, стрептококки.

Цель. Одними из наиболее распространенными бактериальными инфекциями, затрагивающих широкие возрастные группы населения, являются инфекции мочевыводящих, которые к тому же оказываются одной из наиболее распространенных причин назначения противомикробных препаратов в общей клинической практике [5].

Причиной подобных заболеваний являются как представители грамотрицательных бактерий, в частности, представители семейства Enterobacteriaceae (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*), так и некоторые виды грамположительных бактерий (в основном *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*), а также некоторые виды дрожжеподобных грибов [3, 7].



Основная цель терапии инфекции мочевыводящих путей заключается в достижении эффекта исчезновения клинических симптомов, а также искоренение инфекции в целях предотвращения рецидива. Важно проводить диагностику в случае бессимптомных инфекций мочевыводящих путей и признаков бактериурии, параллельно применяя наименее токсичные и экономически оправданные противомикробные лекарственные средства в соответствующих дозах и достаточно длительный период [1].

Проблемой является самостоятельное симптоматическое лечение инфекционного заболевания без предварительного лабораторного анализа посева мочи [4, 9], как следствие, наблюдается рост числа антибиотикорезистентных штаммов бактерий, частота встречаемости которых коррелирует с интенсивностью использования антибиотиков [6, 10].

В связи с этим, целью настоящей работы стал анализ спектра антибиотикорезистентности наиболее распространенных бактериальных штаммов при инфекциях мочевыводящих путей, выделенных у пациентов г. Оренбурга.

Материалы и методы. Изоляты бактериальных штаммов получали из образцов мочи путем посева 10 мкл биологического образца на кровяной агар, который далее инкубировали в течение 18-24 ч при температуре 37°C. Параллельно высев осуществляли на хромогенный агар для обнаружения и подсчета уропатогенных бактерий («HiMedia», Индия). Характер окраски определяется взаимодействием родо- и видоспецифичных ферментов бактерий (*Enterococcus* spp, *Escherichia coli* и других колиформных бактерий) с двумя хромогенными субстратами. Выросшие через сутки однотипные колонии были окрашены по Граму для подтверждения принадлежности к семействам *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcaceae* или *Streptococcaceae*.

Определение чувствительности к антибиотикам осуществляли диско-диффузионным методом, при этом использованы препараты, наиболее часто используемые в клинической практике.

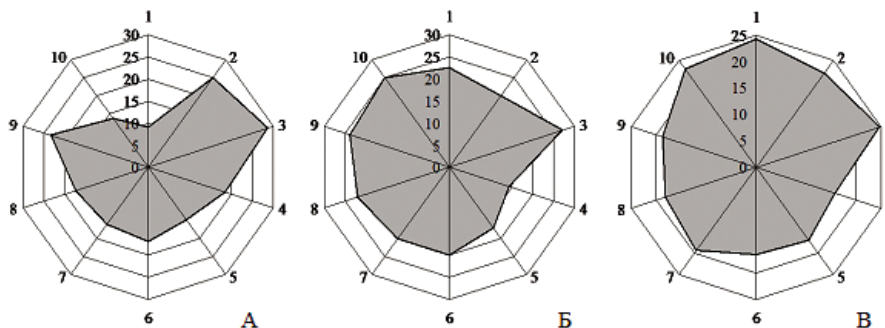
Полученные данные проанализированы с использованием пакета программ Microsoft Office и Statistica с расчетом средней арифметической и ошибки средней, а также нормированного отклонения и дисперсии. Анализ критерия Стьюдента показал наличие различий между рассматриваемыми штаммами при заданном уровне значимости, а с использованием методов корреляционного анализа осуществляли оценку взаимосвязи изучаемых признаков.

Результаты и обсуждение. Оценка вариации чувствительности к антибиотикам. В случае с энтеробактериями, для всех антибиотиков, кроме имипицема, доксициклина и рифампицина были зарегистрированы случаи полного отсутствия подавления роста, число которых составило 23, что составляет 7,67% от общего числа, причем наибольшее количество оказалось при воздействии ампициллина. Несмотря на это, средние величины зон подавления для доксициклина и рифампицина, составляющие $17 \pm 0,9$ мм и $14 \pm 0,7$ мм, соответ-



ственно, оказались не высокими и значительно уступали данному параметру для цефтриаксона, цiproфлoксацина и имипинема (рисунок 1). Нами было установлено, что наибольшую антибактериальную активность проявлял имипинем, для которого зарегистрирован размах значений от 15 до 38 мм со средней величиной $29 \pm 0,9$ мм, а его коэффициент вариации составил всего 18%. В противовес этому, максимальный коэффициент вариации, равный 98% был получен для ампициллина, что свидетельствует о выраженной неоднозначности воздействия данного антибиотика на тестируемую группу микроорганизмов.

В отличие от энтеробактерий, для стафилококков случаи полного отсутствия подавления роста также встречались и характерны только для цефтриаксона, азитромицина, гентамицина, фурадонина, цiproфлoксацина и рифампицина, число которых составило 14. Это соответствует 4,67% от общего числа, а наибольшее количество оказалось при воздействии азитромицина. Средние величины зон подавления роста остальных препаратов составили для ампициллина $23 \pm 1,5$ мм, для имипинема $27 \pm 1,7$ мм, для нетилмицина $20 \pm 1,0$ мм и для доксициклина $22 \pm 1,3$ мм. Вновь наиболее активным антимикробным препаратом оказался имипинем, для которого минимальный диаметр зоны подавления роста составил 14 мм, а максимальный равен 46 мм при коэффициенте вариации 34%. Наименьший коэффициент вариации, равный 28% зарегистрирован для фурадонина, а наибольший – для азитромицина (71%), свидетельствующий о неоднозначности воздействия данного антибиотика на тестируемую группу микроорганизмов.



Обозначения: 1 – ампициллин; 2 – цефтриаксон; 3 – имипинем;
4 – азитромицин; 5 – гентамицин; 6 – нетилмицин; 7 – фурадонин;
8 – доксициклин; 9 – цiproфлoксацин; 10 – рифампицин

Рис.1.
Средние величины диаметров зон подавления для Enterobacteriaceae (А),
Staphylococcaceae (Б) и Streptococcaceae (В)



В отличие от двух других семейств, для стрептококков было зарегистрировано полное отсутствие подавления роста при использовании всех десяти антибиотиков, причем было зарегистрировано 27 таких событий, что составляет 9% от общего числа. Средние величины зон подавления роста наименее активных препаратов составили для азитромицина $16 \pm 2,3$ мм, для гентамицина $17 \pm 2,4$ мм и для нетилмицина $17 \pm 1,7$ мм. Исходя из средних значений наиболее активным антимикробным препаратом по прежнему оказался имипинем ($25 \pm 1,8$ мм), для которого размах составил от 0 до 44 мм при коэффициенте вариации 34%, при этом подавляющая часть наблюдений (около 96%) лежала в диапазоне от 16 мм и более (это критерий чувствительности к данному антибиотику). Несколько неожиданным оказался выраженный ингибирующий эффект ампициллина, занимающий второе место по среднему диаметру зоны ($24 \pm 1,8$ мм) подавления роста и минимуму вариации (35%), что сопоставимо с показателями имипинема. Наибольший коэффициент вариации, равный 68%, как и для стафилококков, зарегистрирован при использовании азитромицина. К тому же высокие значения вариации были установлены для гентамицина (67%) и доксициклина (65%), что говорит о наличии у некоторых из исследуемых изолятов семейства Streptococcaceae механизмов защиты белоксигезирующего аппарата.

Оценка спектра устойчивости к антибиотикам. Установлено, что наибольшая доля среди проанализированных штаммов семейства Enterobacteriaceae резистентно к воздействию рифампицина (60%) и ампициллина (56,67%), а полностью отсутствуют устойчивые штаммы в отношении имипинема (таблица 1). В целом, ряд антибиотикорезистентности выделенных штаммов бактерий семейства Enterobacteriaceae к антимикробным препаратам можно выстроить по мере убывания данного показателя следующим образом: рифампицин > ампициллин > гентамицин > доксициклин > ципрофлоксацин > азитромицин > фурадонин > цефтриаксон > нетилмицин > имипинем.



Таблица 1.

Доля чувствительных (S), умеренно устойчивых (I) и устойчивых (R) среди полученных изолятов, %

Наименование	Enterobacteriaceae			Staphylococcaceae			Streptococcaceae		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Ампициллин	20,00	23,33	56,67	80,00	6,67	13,33	95,65	0,00	4,35
Цефтриаксон	86,67	3,33	10,00	60,00	16,67	23,33	65,22	17,39	17,39
Имипенем	96,67	3,33	0,00	86,67	13,33	0,00	95,65	0,00	4,35
Азитромицин	70,00	10,00	20,00	33,33	20,00	46,67	47,83	21,74	30,43
Гентамицин	40,00	33,33	26,67	43,33	36,67	20,00	47,83	21,74	30,43
Нетилмицин	60,00	36,67	3,33	70,00	23,33	6,67	56,52	21,74	21,74
Фурадонин	60,00	23,33	16,67	86,67	10,00	3,33	82,61	4,35	13,04
Доксициклин	60,00	13,33	26,67	63,33	36,67	0,00	56,52	4,35	39,13
Ципро- флоксацин	76,67	0,00	23,33	80,00	13,33	6,67	56,52	13,04	30,43
Рифампицин	10,00	30,00	60,00	70,00	23,33	6,67	86,96	0,00	13,04

С другой стороны, наибольшая доля среди проанализированных штаммов стафилококков резистентно к воздействию азитромицина (46,67%) и цефтриаксона (23,33%), а полностью отсутствуют устойчивые штаммы в отношении имипиенема и доксициклина. В целом, ряд антибиотикорезистентности выделенных штаммов бактерий семейства Staphylococcaceae к антимикробным препаратам можно выстроить по мере убывания данного показателя следующим образом: азитромицин > цефтриаксон > гентамицин > ампициллин > нетилмицин > рифампицин > ципрофлоксацин > фурадонин > доксициклин > имипенем.

Наконец, среди проанализированных штаммов стрептококков наибольшее число изолятов резистентно к воздействию доксициклина (39,13%), азитромицина, гентамицина и ципрофлоксацина (по 30,43%), а наименьшая доля устойчивых штаммов зарегистрирована в отношении имипиенема и ампициллина (по 4,35%). Общий ряд антибиотикорезистентности выделенных штаммов бактерий семейства Streptococcaceae к антимикробным препаратам можно выстроить по мере убывания данного показателя следующим образом: доксициклин > азитромицин > гентамицин > ципрофлоксацин > нетилмицин > цефтриаксон > фурадонин > рифампицин > ампициллин > имипенем.

Анализ сочетанности действия антибиотиков. Нами было проанализировано наличие однотипности воздействия различных антимикробных препаратов на один и тот же изолят бактерий путем сопоставления ковариации их диаметров зон подавления роста. В случае с изолятами семейства Enterobacteriaceae



установлено, что наибольший уровень сочетанности ($r = 0,71$, $P < 0,05$) характерен для пары гентамицин – нетилмицин, относящихся к группе аминогликозидов, что связано с однотипностью их воздействия на 30S субъединицу рибосомы, ведущее к нарушению процесса присоединения т-РНК к акцепторному участку [2]. С другой стороны, в отношении нетилмицина зарегистрировано меньшее количество устойчивых штаммов, однако на наш взгляд обнаруженное отличие связано не с особенностями воздействия данного антимикробного препарата, а с большей его концентрацией в используемом диске. Наибольшее число корреляционных зависимостей было зарегистрировано для нетилмицина (шесть) и гентамицина (шесть), причем для них типична сочетанность с препаратами из группы тетрациклинов, хинолонов и ансамицинов. Наоборот, наименьшее число связей зарегистрировано для ампициллина (две), коррелирующего с нетилмицином ($r = 0,38$, $P < 0,05$) и рифампицином ($r = 0,53$, $P < 0,05$).

Рассматривая используемые препараты по механизму действия стоит отметить, что зачастую формируются группы антимикробных веществ, действующих на одни и те же, либо сопряженные системы. К примеру, антибиотики, воздействующие на биосинтез белка агрегируются в кластер, в котором ведущим компонентом является доксициклин, взаимодействующий с азитромицином, гентамицином, нетилмицином и фурадоном. Однако по отношению к данной группе препаратов выделенные штаммы *Enterobacteriaceae* демонстрировали достаточно высокий уровень резистентности, в совокупности для пяти указанных препаратов зафиксировано 28 случаев, что составляет около 38% от всех случаев резистентности.

Сходный эффект был зарегистрирован также для представителей семейства *Staphylococcaceae*, для которых вновь было обнаружено, что наибольший уровень сочетанности ($r = 0,84$, $P < 0,05$) характерен для пары гентамицин – нетилмицин, причем более выраженный ингибирующий эффект нетилмицина в данном случае был также отмечен. Помимо этого многие антимикробные препараты продемонстрировали выраженные корреляционные зависимости, что свидетельствует о меньшем разнообразии механизмов защиты выделенных штаммов бактерий семейства *Staphylococcaceae* в отношении антибиотиков. Наибольшее число корреляционных зависимостей было зарегистрировано для азитромицина, гентамицина и нетилмицина, демонстрирующих сочетанность со всеми использованными препаратами. С другой стороны, наименьшее число связей вновь зарегистрировано для ампициллина (четыре), коррелирующего с азитромицином, гентамицином, нетилмицином и фурадоном. В данном случае, действие антибиотиков на штаммы *Staphylococcaceae* не позволило четко сформировать кластеры препаратов, объединяемые по механизму действия на бактериальные клетки.

В отличие от предыдущих двух групп микроорганизмов, у стрептококков установлена наиболее сильная связь ($r = 0,90$, $P < 0,05$) в паре ампициллин – ими-



пинем. Данные препараты, относящиеся к бета-лактамам, продемонстрировали очень сходные эффекты воздействия, что связано с однотипностью их воздействия на клеточную стенку бактерий, одинаковую концентрацию (10 мкг) и, по всей видимости, отсутствием бета-лактамаз у данной группы бактерий. Как и в случае стафилококков, при воздействии на стрептококки многие антимикробные препараты продемонстрировали выраженные корреляционные зависимости, что свидетельствует о единичных случаях наличия каких-либо механизмов защиты выделенных штаммов бактерий семейства Streptococcaceae в отношении антибиотиков. Ампициллин, цефтриаксон, имипинем, ципрофлоксацин и рифампицин проявили сочетанность со всеми использованными препаратами. Таким образом, Streptococcaceae не обладают способностью подавлять процессы нарушения структуры клеточной стенки и нарушения репликации ДНК. С другой стороны, наименьшее число связей зарегистрировано для фурадонина, который в связи с особенностью своего действия, будучи акцептором кислорода, он снижает эффективность деятельности цепи дыхательных ферментов у бактерий, а также ингибирует биосинтез нуклеиновых кислот [8, 11]. Действие антибиотиков на штаммы Streptococcaceae позволило выделить две группы препаратов, объединяемые по механизму действия на бактериальные клетки, то есть действующие на клеточную стенку и на репликацию ДНК.

Анализ числа полирезистентных штаммов. В дальнейшем нами была проведена итоговая оценка числа чувствительных штаммов (S), устойчивых к одному или двум антибиотикам (R12), устойчивых к трем или четырем антибиотикам (R34) и полирезистентных штаммов (MDR). Было выявлено, что в данной группе выделенных штаммов Enterobacteriaceae значительная доля изолятов является устойчивой к одному или двум антибиотикам (около 46,67%), однако встречаются также мультирезистентные штаммы, составляющие порядка 16,67% от общего числа и проявляющих невосприимчивость к пяти или шести видам антимикробных препаратов (рисунок 2). Лишь один из исследованных штаммов семейства Enterobacteriaceae проявлял чувствительность ко всем использованным антимикробным препаратам, а еще три проявляли умеренную или полную чувствительность. В целом, такие нерезистентные штаммы составили 13,33% от общего числа. Наконец, около 23,33% составляли штаммы, устойчивые к трем или четырем антибиотикам.

В группе выделенных штаммов Staphylococcaceae половина является устойчивой к одному или двум антибиотикам (50%), а еще порядка трети изолятов проявляют ту или иную степень чувствительности к использованным препаратам (36,67%). Причем в последней группе выявлено семь штаммов, проявляющих чувствительность ко всем использованным антимикробным препаратам, и четыре показали умеренную или полную чувствительность. Около 10% составляли штаммы, устойчивые к трем или четырем антибиотикам, а число мультирезистентных штаммов было незначительно и составляло 3,33%.

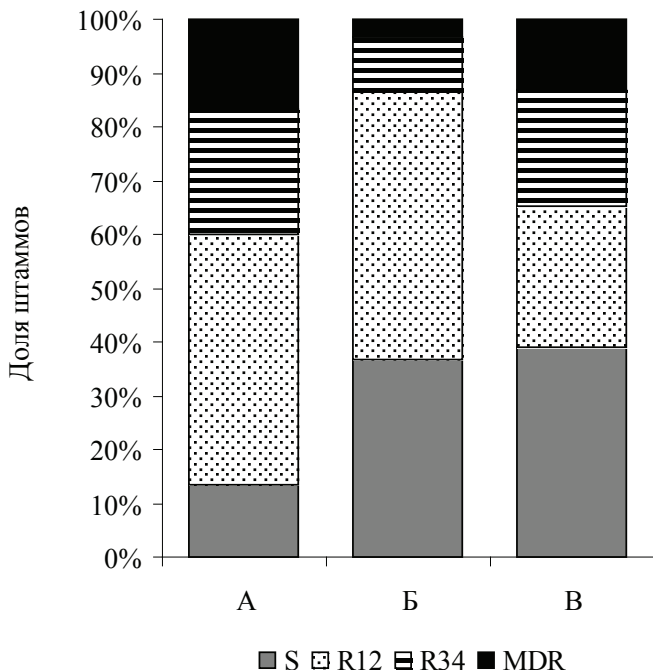


Рис.2.

Распределение чувствительных (S), устойчивых к одному или двум антибиотикам (R12), устойчивых к трем или четырем антибиотикам (R34) и полирезистентных штаммов (MDR) среди изученных изолятов семейств *Enterobacteriaceae* (A), *Staphylococcaceae* (Б) и *Streptococcaceae* (В)

Наконец, выявлено, что в группе выделенных штаммов *Streptococcaceae* значительная часть изолятов (39,13%) восприимчивы ко всем использованным антибиотикам, причем восемь из девяти таковых проявляют полную чувствительность. Группа штаммов, устойчивых к одному или двум антибиотикам составляет 26,09%, и сопоставимое число штаммов, устойчивых к трем или четырем антибиотикам (21,74%). Было выделено три мультирезистентных штамма, что составляет 13,04% от общего числа.

Заключение. Итоговое сравнение антибиотикорезистентности полученных изолятов позволило констатировать, что наибольшее число MDR-штаммов характерно для энтеробактерий, а наименьшее для стафилококков. С другой стороны, наибольшее число чувствительных штаммов характерно для стрептококков и стафилококков, а наименьшее для энтеробактерий. К тому же, весомая доля энтеробактерий характеризуется устойчивостью одновременно к несколь-



ким формам антибиотиков, тогда как стафилококки в большей степени чувствительны или устойчивы к одному или двум препаратам.

У стрептококков возникновение резистентности по всей видимости является достаточно стабильным накопительным признаком, так как прослеживается четкая связь между уровнем устойчивости и числом штаммов.

Оценивая общее число всех штаммов, проявляющих устойчивость к действию использованных антибиотиков, стоит отметить, что наибольшее число таковых выявлено в отношении азитромицина, а с другой стороны, наибольшую степень эффективности проявил имипинем. В целом это позволило выстроить ряд эффективности антимикробных препаратов по мере убывания их способности ингибировать рост энтеробактерий, стафилококков и стрептококков: имипинем > нетилмицин > фурадонин > цефтриаскон > ципрофлоксацин > доксициклин > гентамицин > ампициллин > рифампицин > азитромицин. В качестве рекомендации для преодоления антибиотикорезистентности рекомендуется использовать сочетание имипинема и нетилмицина.

Литература:

1. *Andrašević-Tambić A. Etiologija urinarnih infekcija / Medicus. 2012. Vol.21(1). Pp.15-23.*
2. *Garneau-Tsodikovaa S., Labby K.J. Mechanisms of resistance to aminoglycoside antibiotics: overview and perspectives / Med. Chem. Commun. 2016. Vol.7. Pp.11-27.*
3. *Gupta S., Kapur S., Padmavathi D. Comparative prevalence of antimicrobial resistance in community-acquired urinary tract infection cases from representative States of northern and southern India / J. Clin. Diagn. Res. 2014. Vol.8. Pp.9-12.*
4. *Kostakioti M., Hultgren S.J., Hadjifrangiskou M. Molecular blueprint of uropathogenic Escherichia coli virulence provides clues toward the development of anti-virulence therapeutics / Virulence. 2012. Vol.3. Pp.592-594.*
5. *Livermore D.M. Has the era of untreatable infections arrived? / J. Antimicrob. Chemother. 2009. Vol.64. Pp.29-36.*
6. *Nickel J.C. Urinary tract infections and resistant bacteria / Highlights of a Symposium at the Combined Meeting of the 25th International Congress of Chemotherapy (ICC) and the 17th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), March 31-April 3, 2007, Munich, Germany. Rev Urol. 2007. Vol.9. Pp.78-80.*



7. Prakash D., Saxena R.S. Distribution and antimicrobial susceptibility pattern of bacterial pathogens causing urinary tract infection in urban community of Meerut city, India / *ISRN Microbiol.* 2013. Vol.2013. ID 749629.
8. Sandegren L., Lindqvist A., Kahlmeter G., Andersson D.I. Nitrofurantoin resistance mechanism and fitness cost in *Escherichia coli* / *J. Antimicrob. Chemother.* 2008. Vol.62. Pp.495-503.
9. Shaifali I., Gupta U., Mahmood S.E., Ahmed J. Antibiotic susceptibility patterns of urinary pathogens in female outpatients / *N. Am. J. Med. Sci.* 2012. Vol.4. Pp.163-169.
10. Toval F., Köhler C.D., Wagenlehner F., Mellmann A., Fruth A., Schmidt M.A. et al. Characterization of *Escherichia coli* isolates from hospital inpatients or outpatients with urinary tract infection / *J. Clin. Microbiol.* 2014. Vol.52(2). Pp.407-418.
11. Xavier B.B., Vervoort J., Stewardson A., Adriaenssens N., Coenen S., Harbarth S., Goossens H., Malhotra-Kumar S. Complete Genome Sequences of Nitrofurantoin-Sensitive and -Resistant *Escherichia coli* ST540 and ST2747 Strains / *Genome Announc.* 2014. Vol.2(2). pii:e00239-14.

ИНДИКАЦИЯ ПРИ ОБЕСПЕЧЕНИИ ХИМИЧЕСКОЙ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ

Конев В.В.^{1,2}, Сидоров Д.А.¹, Гребенюк А.Н.¹,
Луцык М.А.¹, Азаров И.И.³

¹Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,

²Северо-Западный государственный медицинский университет
имени И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург,

³Главное военно-медицинское управление
Министерства обороны Российской Федерации,
Москва

Усиление негативного влияния химических и биологических факторов на человека и окружающую среду, увеличение риска возникновения чрезвычайных ситуаций химической и биологической природы могут приводить к отрицательному воздействию на население. Проблема обеспечения химической и биологической безопасности остается одной из важнейших в области охраны здоровья населения. Поэтому 4 декабря 2003 года Президент РФ В.В. Путин ут-



вердил «Основы государственной политики в области обеспечения химической и биологической безопасности Российской Федерации на период до 2010 года и дальнейшую перспективу», которые послужили основанием для разработки Федеральной целевой программы «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2015-2020 гг.)». Целью этой программы является последовательное снижение до приемлемого уровня риска воздействия опасных химических и биологических факторов [3].

Одним из направлений реализации концепции химической и биологической безопасности является совершенствование системы индикации отравляющих и высокотоксичных веществ, биологических средств, а также диагностики опасных инфекционных болезней и отравлений химическими веществами [1].

В условиях воздействия факторов химической и биологической природы индикация является основным мероприятием, по результатам которой принимаются решения о необходимости проведения мероприятий защиты, их объему и последовательности. Индикация проводится с целью своевременного обнаружения вида отравляющих и высокотоксичных веществ, их концентраций в окружающей среде, времени вероятного сверхнормативного воздействия, определения с помощью лабораторных методов микробиологического анализа биологических средств, информирования населения о вероятных последствиях их воздействия на здоровье человека и необходимости проведения мероприятий защиты [2, 4].

Токсикологические и микробиологические исследования (при необходимости, комбинированные) проводятся в центрах индикации биологических поражающих агентов (БПА) и отравляющих и высокотоксичных веществ (ОВТВ).

Центр индикации БПА и ОВТВ, развертывается санитарно-эпидемиологическим учреждениям и предназначен для проведения лабораторных и инструментальных исследований при выполнении задач по индикации и идентификации БПА и ОВТВ, лабораторной диагностике особо опасных заболеваний.

Основными задачами Центра индикации являются:

- организация и участие в осуществлении медико-санитарного обеспечения при ликвидации чрезвычайных ситуаций биологической и химической природы;
- поддержание постоянной готовности, накопление, хранение и обновление (освежение) оснащения, совершенствование системы связи и оповещения персонала;
- прогнозирование и оценка медико-санитарных последствий чрезвычайных ситуаций;
- сбор, обработка, обмен и предоставление информации медико-санитарного характера в области защиты населения и территорий в условиях чрезвычайных ситуаций биологической и химической природы;



- поддержание взаимодействия с различными министерствами и ведомствами с целью получения информации об эпидемической и химической обстановке.

Центр индикации формируется, исходя из штатов санитарно-эпидемиологических учреждений за счет списочного личного состава и имущества текущего довольствия, является формированием постоянной готовности, способным действовать как в составе комплекса подвижных санитарно-эпидемиологических подразделений, так и самостоятельно. В его структуре предусматривается лаборатория индикации БПА и диагностики особо опасных инфекций и лаборатория индикации ОВТВ с распределением персонала по функциональным группам. Состав функциональных групп определяется заблаговременно и своевременно корректируется в целях поддержания должного профессионального уровня специалистов и постоянной готовности их к развертыванию и работе.

В зависимости от химической и эпидемической обстановки персонал и оснащение могут меняться. При необходимости дополнительно может привлекаться специалисты, имеющие соответствующую подготовку.

Таким образом, одним из важных направлений обеспечения химической и биологической безопасности является индикация отравляющих и высокотоксичных веществ, биологических средств, а также диагностики опасных инфекционных болезней и отравлений химическими веществами, по результатам которой принимаются решения о проведении необходимых мероприятий защиты. Значимым аспектом остается необходимость совершенствования подготовки персонала Центра индикации и его оснащение современными приборами и оборудованием.

Литература:

1. Гребенюк А.Н. Современное состояние и перспективы совершенствования медицинских средств индикации отравляющих и высокотоксичных веществ/ А.Н. Гребенюк [и др.] // *Воен.-мед. журн.* – 2011. – № 1 (332). – С. 10–13.
2. МУ 1.1.791-99.1.1. Гигиена, токсикология, санитария. Организация мониторинга химического загрязнения объектов окружающей среды при техногенных авариях. Методические указания (утв. Минздравом России 07.11.1999). – М., ВЦМК «Защита», 2000. URL: <http://www.consultant.ru/cons/cgi/online.cgi?req=doc;base=EXP;n=587475#0> (дата обращения: 02.02.2017).
3. О федеральной целевой программе «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009-2014 гг.)»: Постановление Правительства Рос. Федерации от 27.10.2008 г. N 791. URL: <http://base.garant.ru/2166728/#friends/> (дата обращения: 02.02.2017).



4. Организация и проведение противоэпидемических мероприятий при террористических актах с применением биологических агентов. Методические рекомендации (утв. Минздравом РФ 06.11.2001 N 2510/11646-01-34). – М., ВЦМК «Защита», 2001. URL: <http://docs.cntd.ru/document/901893837> (дата обращения: 02.02.2017).

ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБНОЙ КОНТАМИНАЦИИ АКВАТОРИЙ НЕВСКОЙ ГУБЫ И КОМПЛЕКСА ЗАЩИТНЫХ СООРУЖЕНИЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА ОТ НАВОДНЕНИЙ. РЕТРОСПЕКТИВНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Мальшев В.В., Змеева Т.А., Сбойчаков В.Б.,
Бокарев М.А., Носкова Т.В.

*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Известно, что санитарно-эпидемическое состояние водных ресурсов активно влияет на жизнь и здоровье жителей, соседние почвы и природу в целом.

Цель работы. Ретроспективный анализ санитарно-бактериологического и санитарно-вирусологического состояния водной среды в акватории Невской.

Антропогенное загрязнение окружающей среды самыми разнообразными веществами, относящимися к различным группам микроорганизмов, представляет серьезную угрозу для здоровья человека и среды его обитания. Наиболее распространенными в водной среде и приоритетными загрязняющими микробными агентами являются возбудители группы кишечных палочек, патогенные микроорганизмы и кишечные вирусы. Другим, не менее важным, а то и более важным является влияние этих микроорганизмов на экологические сообщества изучаемых акваторий.

Поспешное использование при проведении гидротехнических работ существующих технологий дноуглубления, намыва и отвала грунтов в подводные карьеры, без осуществления специальных мероприятий по защите окружающей среды вызвало значительное загрязнение акватории Невской губы и Финского залива. При проведении указанных работ, со дна Невской губы было поднято огромное количество осадков, донных отложений, содержащих тяжелые металлы, нефтепродукты, канцерогенные вещества, патогенные микроорганизмы, десятилетиями копившиеся на дне от выноса Невой неочищенных стоков города. В зоне сильного загрязнения разносимыми осадками оказалась и охраняемая, согласно утвержденному Генеральному плану развития Санкт-



Петербурга, лечебно-оздоровительная акватория Курортной зоны. Все пляжи и места массового отдыха Курортного района (Курорт, Репино, Зеленогорск и пр.) оказались не пригодны для купания.

Результаты спутникового мониторинга свидетельствуют, что потери грунта с учетом прямого сброса или отвала грунта в Невскую губу составили 50% или даже больше.

Завершение строительства КЗС, как показали многолетние наблюдения не оказало значительного негативного воздействия на экологическую обстановку в Невской губе и прилегающей части Финского залива. Было признано, что продолжение проекта намыва территорий способно изменить экологическую, геологическую и гидрологическую ситуацию в Финском заливе и Невской Губе.

В настоящее время в Невской губе и прилегающей к ней части акватории Финского залива имеются экологические проблемы, но они обусловлены другими видами деятельности, осуществляемой в Санкт-Петербурге и его пригородах.

Все санитарно-микробиологические и санитарно-вирусологические исследования строго регламентированы. НТД, включают и ряд методических указаний, которые устанавливают методы санитарно-микробиологического контроля качества воды поверхностных водных объектов в пунктах питьевого, хозяйственно-бытового и рекреационного водопользования, а также у населенных мест в соответствии с СанПиН 2.1.5.980-00 «Гигиенические требования к охране поверхностных вод», СанПиН 2.1.4.1074-01 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества». Санитарно-микробиологический анализ воды действующих источников в черте населенных мест, зонах рекреации осуществляют по показателям СанПиН 2.1.5.980-00 «Гигиенические требования к охране поверхностных вод»: общие и термотолерантные колиформные бактерии, колифаги, возбудители кишечных инфекций (сальмонеллы, энтеровирусы).

При решении вопроса о необходимости проведения оздоровительных мероприятий или закрытия зоны рекреации анализ качества воды проводят по более широкому набору микробиологических показателей в соответствии с действующими документами.

Водным путем могут передаваться кишечные инфекции - холера, брюшной тиф и паратифы, сальмонеллез, дизентерия, гепатит А, полиомиелит, а также лептоспирозы, сибирская язва, туляремия, туберкулез, сепсис, Ку-лихорадка, различные грибковые заболевания и др.

В связи с этим основной целью санитарно - микробиологического исследования воды является определение наличия в воде патогенной и условно-пато-



генной микрофлоры, кишечных бактерий и вирусов и, следовательно, источника этого попадания, а также предупреждение распространения инфекционных заболеваний среди населения.

Материалы и методы. Пробы воды отбирались в районах расположения гидролого-гидрохимических и санитарно-бактериологических станций в акватории Невской губы и восточной части Финского залива. Плановые исследования проводились в соответствии с ФЗ «Об охране окружающей среды» № 7-ФЗ от 10.01.2002 (в действующей редакции); ФЗ «Об экологической экспертизе» от 23.11.1995 г. № 174-ФЗ (в действующей редакции); «Программа регулярных наблюдений за водным объектом и его водоохраной зоной» утвержденная ФКП «Дирекция КЗС Мин региона России» 17.09.2012 г. и согласованная с Невско-Ладожским бассейновым водным управлением Федерального агентства водных ресурсов 18.09.2012 г.

Комплекс сооружений защиты Санкт-Петербурга от наводнений в Северных и Южных воротах вершины Финского залива в створе Горская – о. Котлин – Бронка.

Проведение экологического мониторинга состояния акватории в районе створов КЗС проводилось в соответствии с Техническим проектом «Защиты Санкт-Петербурга от наводнений».

Основная цель экологического мониторинга – продолжение ряда наблюдений по контролю за экологическим состоянием прилегающей к створу КЗС акватории и определения антропогенного воздействия на качество водной среды в створе КЗС от внешних источников загрязнения, не связанных с КЗС, для оценки степени их влияния на фоновые концентрации.

Основная задача – выявление степени возможного изменения хода природных процессов и техногенного влияния на гидролого-гидрохимический и санитарно-бактериологический режимы с учетом многолетних рядов данных по сети станций специальных наблюдений КЗС и станций государственной сети наблюдений (ГСН), а также разработки мероприятий для улучшения экологического режима с использованием технологии маневрирования затворами КЗС.

Длина трассы комплекса защитных сооружений 25,4 км, в том числе 22,2 км по акватории Северных и Южных ворот вершины Финского залива в створе пос. Горская - о. Котлин - Бронка. В состав комплекса защитных сооружений входят два судопропускных и шесть водопропускных сооружений, одиннадцать каменно-земляных защитных дамб, автотранспортные сооружения. Суммарная площадь живого сечения водопропускного фронта комплекса защитных сооружений при 0 м БС составляет 9610 м².

Результаты исследований. Уровень бактериального и вирусного загрязнения воды в Невской губе и восточной части Финского Залива во многом зависит от многочисленных источников загрязнения, включая канализованные, и



не канализованные стоки, выполнение работ по намыву территорий, строительных работ в исследуемых акваториях (порт Бронка).

В январе значения индекса ОКБ и ТКБ в пробах воды, отобранных на станциях северного и южного участка КЗС, изменялись от 0,5 до 1,2 ПДК (ст. В-6, В-1). В районе южного и северного участка комплекса сооружений патогенная микрофлора не обнаружена. В январе уровень вирусного загрязнения составил по коли-фагам 0 - 1000, с максимумом на ст. В-3, Д7. Кишечные вирусы были обнаружены в пробах воды на ст. В-1 (обнаружены антиген вируса гепатита А и антигены ротавирусов).

В феврале значения индекса ОКБ и ТКБ в пробах воды, отобранных на станциях северного и южного участка КЗС, изменялись от 0,5 до 1,3 ПДК. В Невской губе на ст.В-1 выделена патогенная микрофлора - сальмонелла.

В феврале уровень вирусного загрязнения составил по коли-фагам 0 - 1000, с максимумом на ст. 17. Кишечные вирусы были обнаружены в пробах воды на ст.В-1 и В-6 (обнаружены только антигены ротавирусов).

В марте значения индекса ОКБ и ТКБ в пробах воды, отобранных на станциях северного и южного участка КЗС, изменялись от 0,5 до 2,3 ПДК (ст.В-6). В Невской губе на ст.В-1 выделена патогенная микрофлора - сальмонелла.

Кишечные вирусы были обнаружены в пробах воды на ст. В-6 и ст.В-1 (антигены ротавирусов и антиген вируса гепатита А).

В апреле значения индекса ОКБ и ТКБ в пробах воды, отобранных на станциях северного и южного участка КЗС, изменялись от 0,5 до 2,2 ПДК (ст.В-1). В районе южного участка комплекса сооружений – на ст.В-1 выявлена патогенная микрофлора-сальмонелла. В Невской губе патогенная микрофлора не выделена.

В апреле уровень вирусного загрязнения составил по коли-фагам 0 - 1000, с максимумом на ст. В-1, В-2, В-5.

Кишечные вирусы обнаружены в пробах воды на ст. В-2 и В-1 (антигены ротавирусов – все положительные пробы, и антиген вируса гепатита А - в двух пробах).

В мае значения индекса ОКБ и ТКБ в пробах воды, отобранных на станциях северного и южного участка КЗС, изменялись от 0,5 до 6,2 ПДК (ст.С1).

В районе южного участка комплекса сооружений патогенная микрофлора – сальмонелла, выявлена на ст. НГ-4, 17, ФЗ-1.

В мае уровень вирусного загрязнения составил по коли-фагам 0 - 1000, с максимумом на ст. С1. Кишечные вирусы были обнаружены в пробах воды на ст. 2, НГ-4, В-5, 30, ФЗ-1 (обнаружены антиген вируса гепатита А и антигены ротавирусов).

В июне уровень бактериального загрязнения, на большинстве станций наблюдений не превышал допустимые пределы, установленные для водоемов в черте населенных мест.



Значения индекса ОКБ и ТКБ в пробах воды, отобранных на станциях южного участка строительства, изменялись от 0,5 до 2,3 ПДК, на северном участке КЗС- 0,5 ПДК. Патогенная микрофлора - сальмонелла выявлена на ст. С-1.

На станциях Невской губы значения коли-индекса изменялись от 0,5 до 25,6 ПДК- ст. 17.

В пробах воды, отобранных в Невской губе, патогенная микрофлора обнаружена на ст. 9, 17 - сальмонеллы.

Уровень бактериального и вирусного загрязнения в Невской губе во многом зависит от многочисленных источников загрязнения, включая и не канализованные стоки, а также работ по намыву территорий.

В июле значения индекса ОКБ и ТКБ в пробах воды, отобранных на станциях северного и южного участка КЗС, изменялись от 0,5 до 4,0 ПДК (ст. В-1, В-2, С-2). В районе северного и южного участков комплекса сооружений патогенная микрофлора не выявлена. На станциях дельты Невы и Невской губы значения индекса ОКБ и ТКБ изменялись от 0,5 до 1,2 ПДК. В Невской губе выделена патогенная микрофлора-сальмонеллы (ст.9).

В июле уровень вирусного загрязнения составил по коли-фагам 0 - 660, с максимумом на ст. В-1, Д2.

Кишечные вирусы в пробах воды обнаружены на ст. 1, С'2, В-1 (обнаружен антиген вируса гепатита А и антигены ротавирусов).

В августе уровень бактериального загрязнения, на большинстве станций наблюдений в районе северного участка комплекса сооружений не превышал допустимые пределы, установленные для водоемов в черте населенных мест, кроме ст. В-2, В-3. Значения коли-индекса в пробах воды, отобранных на станциях южного участка, изменялись от 0,5 до 1,2 ПДК. В районе северного и южного участков комплекса сооружений патогенная микрофлора выявлена на ст. В-2, В-6. В пробах воды, отобранных в Невской губе, патогенная микрофлора – сальмонеллы обнаружена на ст.НГ-2.

В августе уровень коли-фагов составил 0 - 660, с максимумом на ст. 9, НГ-4, В-6, НГ-2, НГ-1.

Кишечные вирусы в пробах воды обнаружены на ст. ФЗ-3, НГ-3, В-6, ФЗ-1, НГ-2, В-2 (обнаружен антиген вируса гепатита А и антигены ротавирусов).

В сентябре значения индекса ОКБ и ТКБ в пробах воды, отобранных на станциях северного и южного участка КЗС, изменялись от 0,5 до 6,2 ПДК (ст.В-3). В районе южного участка комплекса сооружений патогенная микрофлора выявлена на ст.Д2. На станциях дельты Невы и Невской губы значения индекса ОКБ и ТКБ изменялись от 0,5 до 2,7 ПДК (ст.1). Патогенная микрофлора-сальмонелла выделена на ст. Д2.

В сентябре уровень вирусного загрязнения составил по коли-фагам 0 - 1000, с максимумом на ст. 30.



Кишечные вирусы были обнаружены в пробах воды на ст. С², В-1, С-1, Д2 (обнаружен антиген вируса гепатита А и антигены ротавирусов).

В октябре уровень бактериального загрязнения незначительно превышал допустимые пределы, установленные для водоемов в черте населенных мест. Значения индекса ОКБ и ТКБ в пробах воды, отобранных на станциях северного и южного участка КЗС, изменялись от 0,5 до 1,2 ПДК (ст.С-2). В районе северного и южного участков комплекса сооружений патогенная микрофлора не выявлена. В Невской губе на ст. С² обнаружена патогенная микрофлора – сальмонелла.

В октябре уровень вирусного загрязнения составил по коли-фагам 0 - 1000, с максимумом на ст. ФЗ-3, НГ-1, НГ-2.

Кишечные вирусы были обнаружены в пробах воды на ст. С², НГ-4, ФЗ-2, ФЗ-1, Д2, НГ-1, В-1 (обнаружен антиген вируса гепатита А и антигены ротавирусов).

В ноябре уровень бактериального загрязнения превышал допустимые пределы, установленные для водоемов в черте населенных мест. Значения индекса ОКБ и ТКБ в пробах воды, отобранных на станциях северного и южного участка строительства, изменялись от 0,5 до 2,6 ПДК (ст.В-1). В изучаемой акватории патогенная микрофлора обнаружена на ст.В-6.

В ноябре уровень вирусного загрязнения составил по коли-фагам 0 - 1000, с максимумом на ст. В-1. Кишечные вирусы были обнаружены в пробах воды на ст. В-1 (обнаружен антиген вируса гепатита А и антигены ротавирусов).

В декабре уровень бактериального загрязнения превышал допустимые пределы, установленные для водоемов в черте населенных мест. Значения индекса ОКБ и ТКБ в пробах воды, отобранных на станциях северного и южного участка строительства, были в пределах нормативов, за исключением ст. В-1 – 2,1 ПДК. В изучаемой акватории патогенная микрофлора не выявлена. Кишечные вирусы обнаружены на ст.В-1, ст.В-2, ст.В-6 (обнаружен антиген вируса гепатита А и антигены ротавирусов).

Санитарно-микробиологические исследования, проводимые в 2015 году свидетельствуют о разной по степени микробной контаминации воды изучаемых акваторий КЗС и Невской губы, включая и вирусное загрязнение возбудителями гепатита А и ротавирусного гастроэнтерита.

Анализ результатов лабораторных исследований свидетельствует о перераспределении загрязнений, а значит и повышенное количество микроорганизмов будет сопровождать строительство портовых комплексов, связанное с намывом территорий в районе Бронки и Ломоносова, на участке Лисий Нос - Сестрорецк и др. Проведение больших по объему гидротехнических работ, влечет за собой значительное техногенное воздействие на акваторию. Если к этому добавить сбросы станций аэрации, где несмотря на значительные усилия по очистке и обеззараживанию сточных вод, еще имеются находки и кишечных



микроорганизмов и кишечных вирусов. Современные методы механической и биологической очистки не обеспечивают полного освобождения сточных вод от патогенных кишечных бактерий и кишечных вирусов в очищенных сточных водах, и они являются основным резервуаром кишечных бактерий и вирусов в природе.

Полученные результаты еще раз свидетельствуют о необходимости комплексных мер по снижению и техногенной и антропогенной нагрузки на Невскую губу и восточную часть Финского залива, что должно привести к предотвращению дальнейшего ухудшения экологического состояния изучаемых акваторий.

Выводы. 1. Акватории в районе КЗС и Невской губы за период июль-декабрь характеризуются средним уровнем фекального загрязнения, о чем свидетельствуют показатели индекса ОКБ, ТКБ, уровня коли-фагов, обнаружение патогенной микрофлоры и кишечных вирусов. Однако вызывает большую обеспокоенность юго-западная часть акватории Невской губы, где ведутся большие по объему дноуглубительные работы и строительство порта.

2. Значительная обсемененность проб воды кишечными патогенами как бактериального, так и вирусного происхождения в северной и южной частях акватории свидетельствуют о загрязнении Невы недостаточно очищенными фекальными стоками, либо несанкционированными сбросами сточных вод из коттеджей и садоводств.

3. Состояние акватории вокруг южного участка комплекса защитных сооружений по состоянию на январь-декабрь 2015 г. – неудовлетворительное, на ст. В-1, В-2, НГ-1, НГ-2.

4. Особую обеспокоенность вызывает контаминация бактериальными и вирусными патогенами южной, конкретней юго-западной части (ст. В-1, В-2, С-1) и северной (В-6) частей КЗС, северной части акватории Невской губы (ст. С”2 и ст.НГ-4).

5. В течение всего периода проведения гидротехнических работ, связанных в первую очередь с намывом территорий, экологический мониторинг должен быть объективным, соответствующим международным нормам и правилам, в тоже время необходима обратная связь в организациями-загрязнителями изучаемых акваторий для принятия решений по минимизации экологического ущерба.

Литература:

1. *Мальшев В.В., Каталевский Е.Е., Кононова С.В. Мембраны в водо-подготовке и очистке сточных вод. Медико-экологическая эффективность мембранных технологий – Статья Печ. Сборник трудов*



- Международного экологического конгресса «ЭКВАТЭК-2014, М., 2014.- С. 112-115
2. Малышев В.В., Каталевский Е.Е., Кононова С.В. Мембраны в водо-подготовке и очистке сточных вод. Медико-экологическая эффективность мембранных технологий – Статья Печ. Сборник трудов Международного экологического конгресса «ЭКВАТЭК-2014, М., 2014.- С. 112-115
 3. Малышев В.В., Каталевский Е.Е., Кононова С.В. Мембраны в водо-подготовке и очистке сточных вод. Медико-экологическая эффективность мембранных технологий- Статья Печ. Internet: <http://www.membranecenter.ru/2014>
 4. Малышев В.В. Оценка антропогенного воздействия на водные экосистемы при намыве территорий и проведении гидротехнических работ в акваториях Невской губы и восточной части Финского залива/ Малышев В.В. //В кн. Рыбохозяйственные водоемы России. Фундаментальные и прикладные исследования: сборник трудов Международной конференции, посвященной 100-летию ГОСНИОРХ – СПб, ГОСНИОРХ, 2014. – С.401-402.
 5. Malyshev V.V. Use of membrane technologies to studing bioinert interactions/Malyshev V.V. //V International Symposium “Biogenic-abiogenic interactions in natural and antropogenic systems” 20-22 October 2014/- SPb, 2014 P. 215-219/
 6. Malyshev V.V. Ecosystem Health and Safety Gulf of Finland. Strategy of Introduction of Experience of Complex Ecological Monitoring in Problem Water Areas of Russia// Malyshev V.V.- Helsinki, November, 26-27, 2014. P.65-66
 7. Малышев В.В., Михайленко Р.Р. Интегрированное управление водными ресурсами и комплекс сооружений защиты Санкт-Петербурга от наводнений. // Государственный доклад “О состоянии окружающей среды в Санкт-Петербурге и Ленинградской области в 1998 году” СПб, 1999.- С. 102 – 107.
 8. Малышев В.В. Эколого-эпидемиологическая характеристика циркуляции кишечных вирусов в регионе / Критерии экологической безопасности. Материалы научно-практической конференции 25-27 мая 1997 г. - С.-Пб, 1994.- С.58-59.
 9. Малышев В.В. Комплексный подход к проведению экологического мониторинга за контаминацией энтеровирусами воды в бассейне Невы / Военная наука и образование - городу . Тезисы докладов. - С.-Пб, 1997.- С. 174.



10. Малышев В.В., Михайленко Р.Р., Сбойчаков В.Б., Белогурова Т.Б., Никонова Е.В. Применение молекулярно-биологических методов при проведении мониторинговых исследований акватории Невской губы. Проспективное исследование – Тезисы Печ. Сборник трудов VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Том I, М., 2014.- С.401-402
11. Malyshev V, Mikhailenko R. The deterioration of the health of the ecosystem at a pollution of water areas of the Neva Bay and the Eastern Gulf of Finland in the context of hydrotechnical works on inwash of territories and port construction Печ. Internet: msi.ttu.ee/2014
12. Малышев В.В., Михайленко Р.Р., Сбойчаков В.Б., Белогурова Т.Б., Никонова Е.В. Применение молекулярно-биологических методов при проведении мониторинговых исследований акватории Невской губы. Проспективное исследование – Тезисы Печ. Сборник трудов VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Том I, М., 2014.- С.401-402
13. Малышев В.В., Михайленко Р.Р., Сбойчаков В.Б., Белогурова Т.Б., Никонова Е.В. Характеристика санитарно-микробиологических и санитарно-вирусологических показателей воды в акватории Невской губы и восточной части Финского залива. – Тезисы Печ. Сборник трудов VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Том I, М., 2014.- С.401-402
14. Малышев В.В., Сбойчаков В.Б., Семена А.В., Клецко Л.И., Никонова Е.В. Молекулярно-биологическая характеристика острых кишечных вирусных инфекций в отдельных регионах России - Статья Печ. Сборник трудов VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Том I, М., 2014.- С.402-405
15. Малышев В.В., Сбойчаков В.Б., Семена А.В., Клецко Л.И., Никонова Е.В. Молекулярно-биологическая характеристика острых кишечных вирусных инфекций в отдельных регионах России - Статья Печ. Сборник трудов VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Том I, М., 2014.- С.402-405
16. Хованова С.Б., Репина М.Е., Непомилуева Л.И., Почобут И.Л., Малышев В.В. Опыт работы Центральной аналитической лаборатории ООО «Тюмень Водоканал» - Статья Печ. Журнал, Водоснабжение и санитарная техника - №6, 2014.- С.402-405
17. В. Чапати Рао, Теодор Дж. Меткалф, Дж. Л. Мелник. Вирусы человека в донных отложениях, осадке сточных вод и почве. Бюллетень ВОЗ №1.-1985.
18. Методические указания 4.2.2029-05. МУК по санитарно-вирусологическому контролю водных объектов окружающей среды., М., 2006.



К ВОПРОСУ О ЦИРКУЛЯЦИИ КИШЕЧНЫХ ВИРУСОВ СРЕДИ ДЕТСКОГО НАСЕЛЕНИЯ РОССИИ

**Малышев В.В., Змеева Т.А., Сбойчаков В.Б.,
Носкова Т.В., Проценко А.Н.**

*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

До настоящего времени остается актуальной проблема ротавирусной инфекции (РВИ) и вирусного гепатита А (ГА) у детей (Онищенко Г.Г., 2009, Малышев В.В. с соавт., 2016). В последние годы регистрируется высокий уровень заболеваемости острыми кишечными инфекциями (ОКИ), ротавирусной инфекцией и вирусным гепатитом А.

На фоне общего снижения заболеваемости ГА в разных регионах имеют место эпидемические вспышки этой инфекции у детей, в том числе, и в организованных коллективах детских образовательных учреждений (ДОУ).

Способы заражения детей РВИ и ГА различные. Этими инфекциями может заболеть любой человек. Для заражения необходим источник инфекции – больной в явной или стертой форме или же вирусоноситель. Необходимо знать, что в 1 г. фекалий больного содержится 10^{11} - 10^{12} вирусных частиц. Передаточное звено кишечных инфекций – это пища, вода или руки, постельные принадлежности, загрязненные испражнениями больного РВИ или ГА. Общий характер питания и водопользования – это дополнительный риск заражения. Очень часто встречаются случаи групповой заболеваемости в семьях, где первоначально появляется больной (ребенок или взрослый). Кроме того, употребляя плохо вымытые фрукты и овощи, продукты питания, в том числе и молочные, которые не подвергаются термической обработке, сырые морепродукты, фальсифицированную минеральную или питьевую бутилированную воду, лед, имеется риск инфицирования. При контактно-бытовом пути передачи большинство детей инфицируются больше чем один раз. Первое инфицирование, как правило, наиболее выраженное. Иммуитет нестойкий, приобретается в результате перенесенного заболевания, повторные заболевания могут регистрироваться через 1 – 1,5 года после перенесенной инфекции. Контактно-бытовой передаче отводится второе место после водного пути. Установлена следующая последовательность снижения вирусного загрязнения помещений ДОУ (от максимума к минимуму): игровые комнаты → санитарные комнаты → пищеблоку → комнаты приема детей → спальные комнаты. Исследование смывов, взятых в детских инфекционных стационарах, позволило установить высокую контаминацию патогенными вирусами



предметов и объектов внешней среды. При этом в наибольшей степени оказались загрязненными детские отделения и в минимальной – хирургические отделения больниц.

Английские эпидемиологи обнаружили, что до 30% бытовых поверхностей в жилом помещении могут быть загрязнены ротавирусами (такие как ручки от холодильника, ручки водопроводного крана, игрушки и прочее).

Из всех категорий, наиболее уязвимыми являются дети и персонал ДОУ, особенно обслуживающий детей в памперсах, а также дети и персонал домов ребенка и учреждений умственно отсталых детей.

Клинические проявления ротавирусной инфекции и гепатита А. Заболевание РВИ может протекать и бессимптомно, такие случаи нередко обнаруживались у новорожденных. Такое течение в дальнейшем защищает детей от тяжелых ротавирусных гастроэнтеритов на протяжении первых 3 лет жизни. В мире ежегодно регистрируется до 18 млн. случаев РВИ и до 600 000 смертей (в основном дети до 5 лет) в год. Ведущая причина тяжелой формы дегидративной диареи в детском возрасте - обезвоживание (действие энтеротоксина - НСП4 приводит к увеличению секреции хлоридов). Население инфицируется не только в детском возрасте, но и подростки и взрослые подвержены риску заболевания. Причина примерно 1/3 госпитализаций, связана с диареей.

Инкубационный период при РВИ от 15 часов (реально при массивном инфицировании - около 5 часов) до 3-5 суток. Наиболее типичные симптомы ротавирусной инфекции: диарея (стул 5 - 10 раз в день) – у 95-97% больных; рвота – у 70% - 90%; лихорадка (39-40°C) – у 60% - 80%; склеры – белые, цвет мочи может измениться кратковременно. Средняя продолжительность клинического течения 7-8 дней.

При гепатите А не всегда выражена клиническая картина заболевания. Инкубационный период от 15 до 45 дней (в среднем -30). Заболевание протекает с пожелтением белковой оболочки глаз, потемнением мочи, светлым стулом, тошнотой, отвращением от пищи, субфебрильной температурой, усталостью, общей слабостью, неприятными ощущениями в животе, изредка рвотой, послаблением стула.

Вакцинопрофилактика вирусного гепатита А ГА. Одним из наиболее эффективных противоэпидемических мероприятий является вакцинопрофилактика. После полного цикла вакцинации поствакцинальный иммунитет у привитого сохраняется пожизненно.

По состоянию на сегодняшний день прививки против гепатита А и ротавирусной инфекции включены в Календарь профилактических прививок по эпидемическим показаниям (Приказ МЗ РФ №125н от 21.03.2016 г.). Вакцинации подлежат следующие контингенты: дети проживающие на тер-



ритории с высоким риском заболеваемости гепатитом А; медицинские работники, воспитатели и персонал детских дошкольных учреждений; работники сферы обслуживания населения, прежде всего занятые в организациях общественного питания, специалисты по обслуживанию водопроводных и канализационных сооружений, оборудования и сетей; выезжающие в гиперэндемичные по гепатиту А регионы и страны, а также контактные в очагах по эпидпоказаниям.

По опыту работы многих регионов при проведении вакцинальной кампании против гепатита А стараются расширить объем контингента прививаемых.

Вакцины против гепатита А: ГЕП-А-ин-ВАК (отечественная) - с 3 лет; Хаврикс-720 (с 2 до 18 лет) - GSK; Хаврикс-1440 (с 18 лет) - (GSK); Аваксим (с 2 лет) - (Sanofi Pasteur), Вакта 0,5 (с 2 до 18 лет) и 1,0 (с 18 лет) - (Merk Sharp&Doum).

Против ротавирусной инфекции в России зарегистрирована вакцина Merck RotaTeq®. Это пентавалентная, бычье-человеческая рекомбинантная живая аттенуированная ротавирусная вакцина для перорального применения. Жидкая вакцина, 5 бычье-человеческих рекомбинантных штаммов: G серотипы – человеческие G1, G2, G3 и G4; бычий G6. Перекрестная защита против многих штаммов ротавируса. Высокая эффективность и безопасность. 3-дозный режим вакцинации, в то же время, что и АКДС-1, 2, 3.

Статус вакцинации против ротавирусной инфекции в Европейском регионе ВОЗ. Ротавирусные вакцины зарегистрированы в 32 странах региона. Имеются в продаже в частном секторе почти во всех странах Европейского Союза (ЕС). Страны ЕС: Австрия, Бельгия и Люксембург ввели вакцинацию в календарь прививок. По сообщениям финского Национального института здравоохранения в стране каждый год 11000 детей болеют диареей ротавирусной этиологии. Министерство социального обеспечения и здравоохранения Финляндии включило с сентября 2009 года вакцину против ротавирусной инфекции в национальный календарь профилактических прививок. Дети в возрасте 6 недель и старше получают вакцину против ротавирусной инфекции производства компании Sanofi Pasteur MSD (Rotarix™). Первичная вакцинация предполагает три дозы, последняя из которых будет проведена в возрасте 26 недель. Вакцина призвана снизить как распространенность ротавирусной диареи в девяти из десяти случаев, так и бремя заболевания для общества. Стоимость вакцины для Финляндии составит 2,6 миллиона евро в год.

Страны ГАВИ в Европейском регионе ВОЗ: Узбекистан и Армения рассматривают включение ротавирусной вакцины во всеобщую иммунизацию.



Общая профилактика РВИ и ГА. Необходимо соблюдать общие рекомендации по профилактике указанных выше кишечных инфекций – это тщательное мытье рук после пользования туалетом, уборки, смены ребенку памперса, перед приготовлением и употреблением пищи. В ДОУ ужесточается дезинфекционный режим.

Экспертами Всемирной Организации Здравоохранения для эффективно-го санитарного просвещения населения всей планеты по профилактике ОКИ были разработаны десять «золотых» правил для предотвращения пищевых отравлений (кишечных инфекций, включая, и РВИ, и ГА). Они всецело могут быть взяты на «вооружение» и родителями, и руководителями ДОУ.

1. Выбор безопасных пищевых продуктов. Многие продукты, такие как фрукты и овощи, потребляют в сыром виде, в то время как другие - рискованно кушать без предварительной обработки. Например, всегда покупайте пастеризованное, а не сырое молоко. Во время покупки продуктов имейте в виду, что цель их последующей обработки - сделать пищу безопасной и удлинить срок ее хранения. Определенные продукты, которые потребляются сырыми, требуют тщательной мойки, например, салат.

2. Тщательно приготавливайте пищу. Многие сырые продукты, главным образом, птица, мясо и сырое молоко, часто обсеменены патогенными микроорганизмами. В процессе варки (жарки) бактерии уничтожаются, но помните, что температура во всех частях пищевого продукта должна достигнуть 70° С. Если мясо цыпленка все еще сырое у кости, то поместите его снова в духовку до достижения полной готовности. Замороженное мясо, рыба и птица должны тщательно оттаиваться перед кулинарной обработкой.

3. Ешьте приготовленную пищу без промедления. Когда приготовленная пища охлаждается до комнатной температуры, микробы в ней начинают размножаться. Чем дольше она остается в таком состоянии, тем больше риск получить пищевое отравление. Чтобы себя обезопасить, ешьте пищу сразу после приготовления.

4. Тщательно храните пищевые продукты. Если Вы приготовили пищу впрок или хотите после употребления сохранить оставшуюся ее часть, имейте в виду, что она должна храниться либо горячей (около или выше 60° С) либо холодной (около или ниже 10° С). Это исключительно важное правило, особенно если Вы намерены хранить пищу более 4-5 часов. Пищу для детей лучше вообще не подвергать хранению. Общая ошибка, приводящая к бесчисленным случаям пищевых отравлений - хранение в холодильнике большого количества теплой пищи. Эта пища в перегруженном холодильнике не может быстро полностью остыть. Когда в середине пищевого продукта слишком долго сохраняется тепло (температура свыше 10° С), микробы выживают и быстро размножаются до опасного для здоровья человека уровня.



5. Тщательно подогревайте приготовленную заранее пищу. Это наилучшая мера защиты от микроорганизмов, которые могли размножиться в пище в процессе хранения (правильное хранение угнетает рост микробов, но не уничтожает их). Еще раз, перед едой, тщательно прогрейте пищу, (температура в ее толще должна быть не менее 70° С).

6. Избегайте контакта между сырыми и готовыми пищевыми продуктами. Правильно приготовленная пища может быть загрязнена путем соприкосновения с сырыми продуктами. Это перекрестное загрязнение может быть явным, когда например, сырая птица соприкасается с готовой пищей, или может быть скрытым. Например, нельзя использовать одну и ту же разделочную доску и нож для приготовления сырой и вареной (жареной) птицы. Подобная практика может привести к потенциальному риску заражения продуктов и росту в них микроорганизмов с последующим отравлением человека.

7. Часто мойте руки. Тщательно мойте руки перед приготовлением еды и после каждого перерыва в процессе готовки - особенно, если Вы перепеленали ребенка или были в туалете. После разделки сырых продуктов, таких как рыба, мясо или птица, опять вымойте руки, прежде чем приступить к обработке других продуктов. А если у Вас имеется инфицированная царапина (ранка) на руке, то обязательно перевяжите ее или наложите пластырь прежде, чем приступить к приготовлению пищи. Также помните, что домашние животные - собаки, птицы и особенно, черепахи - часто носители опасных микроорганизмов, которые могут попасть в пищу через ваши руки.

8. Содержите кухню в идеальной чистоте. Так как пища легко загрязняется, любая поверхность, используемая для ее приготовления, должна быть абсолютно чистой. Рассматривайте каждый пищевой обрезок, крошки или грязные пятна как потенциальный резервуар микробов. Полотенца для протирания посуды должны меняться каждый день. Тряпки для мытья полов также требуют частой стирки.

9. Храните пищу защищенной от насекомых, грызунов и других животных. Животные часто являются переносчиками патогенных микроорганизмов, которые вызывают пищевые отравления. Для надежной защиты продуктов храните их в плотно закрывающихся банках (контейнерах).

10. Используйте чистую воду. Чистая вода исключительно важна как для питья, так и для приготовления пищи. Если у Вас есть сомнения в отношении качества воды, то прокипятите ее перед добавлением к пищевым продуктам или перед использованием.



АКТУАЛЬНЫЕ ВИРУСНЫЕ КИШЕЧНЫЕ АНТРОПОНОЗЫ И ВИРУСНЫЙ ГЕПАТИТ А (ЭТИОЛОГИЯ И КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА)

Малышев В.В., Змеева Т.А., Семена А.В.
*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Острые кишечные вирусные инфекции и вирусный гепатит А, наиболее известный вирусный кишечный антропоноз достаточно подробно изучен с эпидемиологической и клинической стороны.

В инфекционной патологии человека наибольшее значение имеют кишечные вирусы, объединенные в следующие семейства и роды (перечисляются только роды актуальные для человека):

Семейство Picornaviridae. РНК содержащие вирусы, РНК однонитчатая, линейная, нефрагментированная, обладает инфекционными свойствами и выполняет роль информационной РНК, кодирует 4 белка. Морфология вирионов: имеют икосаэдральный - кубический тип симметрии. Термин «пикорнавирусы» введен в 1962 г. на VIII Международном микробиологическом конгрессе, а до этого представители семейства обозначались как «нани - вирусы», т. е. вирусы-карлики. Включает род Enterovirus (вирусы полиомиелита- /типы I, II, III/; Коксаки А /23 типа/; Коксаки В /6 типов/; ЕСНО /31 тип/; энтеровирусы новые / 68 – 71 типы/); - Род Heparnavirus – (вирус гепатита А- 1 тип). Семейство Caliciviridae. Включает род Calicivirus, в состав которого включен вирус Norwalk – вирус гастроэнтерита человека (более 5 типов) и вирус гепатита Е. Семейство Reoviridae. Включает род Rotavirus- (возбудители диарейных заболеваний человека - более 6 типов). Семейство Coronaviridae. Включает род Coronavirus – человеческий коронавирус – 2 типа. Семейство Adenoviridae. Включает род Mastadenovirus - аденовирусы человека (более 36 типов).

В настоящее время соотношение острых кишечных инфекций (ОКИ) установленной и неустановленной этиологии составляет 1:4 – 1:5. Эта картина отражает реальную ситуацию уровня диагностики указанных инфекций среди населения России. Заболеваемость ОКИ бактериальной и вирусной этиологии сохраняется в последние годы на достаточно высоком уровне [4, 5, 8].

Материалы и методы. Нами, в эпидемическом очаге ОКИ, было подвергнуто клинико-эпидемиологическому изучению и лабораторному исследованию 158 больных с клинической картиной гастроэнтерита.



Этиологическая структура ОКИ среди больных определялась вирусологическими и специфическими серологическими методами. Обнаружение в фекалиях ротавирусного антигена проводилось методом иммуноферментного анализа, с использованием тест-системы «Рота-антиген» (НПП «АК-ВАПАСТ», г. Санкт-Петербург) и латекс-теста с применением тест-системы «Diarlex Rota» (Orion Diagnostica, Финляндия). Энтеровирусы (ЕСНО, Коксаки А, Коксаки В) определяли в фекалиях классическим вирусологическим методом нейтрализации, с использованием диагностических сывороток (производство НИИ полиомиелита и вирусных энцефалитов РАМН, г. Москва).

Эпидемиология. Вспышка была зарегистрирована в зимний период. Временные границы эпидемического очага ОКИ составили 2 месяца. Это полностью совпадало с результатами полученными другими исследователями о том, что свыше 70% больных выявляется в зимнее и зимне-весеннее время года. В этот же период, регистрируется большинство вспышек ротавирусной инфекции как среди населения, так и в организованных коллективах [1, 2, 4, 8, 9, 10]. Источниками инфекции являлись больные манифестной формой инфекции или бессимптомно выделяющие ротавирусы с фекалиями. Больные, начиная с первого дня болезни, выделяют ротавирусы в окружающую среду, при этом максимальное количество возбудителя в фекалиях (до 10^{10} - 10^{11} вирусных частиц в 1 г.) выявляется в течение первых 5-ти дней болезни, что и определяет наибольшую эпидемическую опасность больных РВИ для окружающих лиц, именно в этот период болезни. В течение последующих 6-10 дней выделение ротавирусов с фекалиями больных резко падало по мере нормализации стула [1, 3, 9].

Этиологическая структура. При проведении стандартного бактериологического обследования фекалий 158 больных, поступивших из эпидемического очага ОКИ в стационар, у 33 (21%) был обнаружен возбудитель: у 19% - *S. Flexneri* 2a и у 2% - энтеропатогенная кишечная палочка O_{124} . У остальных 125 человек (79%) этиологический агент обнаружен не был. Нами проведено дополнительное исследование образцов фекалий и крови от всех поступивших. Установлено, что ведущее место среди возбудителей ОКИ неустановленной этиологии занимали: ротавирусы – 49%, вирусы ЕСНО – 18% и Коксаки А – 8% [4, 5, 7].

Параллельно был проведен анализ смены доминирующих штаммов кишечных вирусов за период 1980-2001 г.г. в отдельных регионах России, включая и северо-западный регион, где установлена следующая динамика - энтеровирусы ЕСНО 4, 6, 14, 30; Коксаки В 5, 6; ЕСНО 11, 4, 20; новые энтеровирусы (серотипы - 68-71) и ротавирусы. В последние годы регистрируется политипаж возбудителей. В дальневосточном регионе России отмечается превалирование энтеровирусов Коксаки А5; ЕСНО 30; Коксаки В1, В5; ЕСНО 13; новых энте-



ровирусов (серотип 70); ротавирусов и энтеровирусов ЕСНО 7, 24. В центральном и южном регионах России установлена следующая последовательность в структуре доминирующих кишечных вирусов – Коксаки А, Коксаки В, ЕСНО, новые энтеровирусы (серотипы 70, 71) [6].

Клинические проявления. Инкубационный период у больных РВИ, по нашим данным, был небольшим и длился от 15 часов до 5 суток, но чаще составлял - 1-3 дня [1, 4, 7, 9]. Структура диагнозов направления в стационар и первичных диагнозов была практически идентичной: острый энтероколит – 57,5% и 63,9%, соответственно; острый гастроэнтероколит - 6,4% и 6,4%; острое респираторное заболевание - 4,8% и 3,2%; дизентерия - 6,4% и 6,4%; дискинезия кишечника - 17,7% и 17,7%; пищевая токсикоинфекция – 1,6% и 1,6%. В тоже время, аппендицит - 4,8% и 1,6%, соответственно. Причем, двоих военнослужащих из 4-х подозреваемых на аппендицит, прооперировали. При лабораторном исследовании у этих лиц был обнаружен ротавирусный антиген в фекалиях. А диагноз «острый аппендицит» после проведенного гистологического исследования червеобразного отростка был снят.

У большинства больных отмечалось острое начало заболевания. Диарея была у 97% больных и продолжалась 3-6 дней. Частота стула в среднем составляла 4-6 раз в сутки. Рвота отмечалась у 81% больных РВИ. Чаще всего она возникала одновременно с диареей. Температура, не превышала 39°C (37,9-39,0°C) и нормализовалась к 3-4 дню болезни [1, 3, 9]. Санитарно-эпидемиологический надзор и санитарно-противоэпидемические (профилактические) мероприятия. При проведении эпидемиологического надзора за очагом ОКИ было выделено два направления. Первое направление включало проведение ретроспективного эпидемиологического анализа заболеваемости военнослужащих данного коллектива диареей недизентерийной этиологии. Второе направление было связано с активным выявлением источников инфекции, в том числе РВИ, с помощью специфических лабораторных методов исследования [6, 8, 9].

При проведении мероприятий, направленных на повышение невосприимчивости, может быть рекомендована специфическая профилактика РВИ антиротавирусным иммуноглобулином для энтерального применения (производство НИИЭиМ им. Габричевского, г. Москва) по 1 дозе (доза 1,5 мл) за 30 мин до еды, 2 раза в день в течение 5 суток.

Таким образом, по нашим данным в структуре кишечных антропонозов (ОКИ неустановленной этиологии) у взрослых преобладала ротавирусная инфекция (49%), что согласуется с немногочисленными публикациями по этому вопросу [1, 2, 3, 7, 10]. Лишь полная этиологическая расшифровка заболеваемости ОКИ с помощью специфических лабораторных тестов позволяет оценить как эпидемиологические, так и клинические особенности острых



кишечных вирусных инфекций в организованных коллективах и дает возможность проведения целенаправленной иммунопрофилактики РВИ и других вирусных диарей.

Литература:

1. Букринская А.Г., Грачева Н.М., Васильева В.И. Ротавирусная инфекция.- М.: -1989.- С.223.
2. Васильев Б.Я., Марченко Л.Г., Грицко Р.Ю. и др. Возможные пути распространения ротавирусной инфекции в организованных коллективах.// Эпидемиология и инфекционные болезни.-1998.- №4.- С.31.
3. Васильев Б.Я., Васильева Р.И., Лобзин Ю.В. Острые кишечные заболевания. Ротавирусы и ротавирусная инфекция.- Серия «Мир медицины».- СПб.: Издательство «Лань», 2000.- 272 с.
4. Лобзин Ю.В., Семена А.В., Малышев В.В. и др. Клинико-эпидемиологическое изучение острого энтероколита в организованном коллективе// Тезисы докладов симпозиума Санкт-Петербургского медико-биологического конгресса «Инфекционные болезни: современные концепции терапии».- Санкт-Петербург, 1997.- С.35.
5. Малышев В.В., Огарков П.И., Семена А.В. Проблемы эпидемиологии, диагностики и профилактики кишечных вирусных антропонозов в организованных коллективах.// Тезисы докладов общероссийской конференции «Острые кишечные инфекции вирусной и бактериальной природы».- Москва, 1997.- С.38.
6. Машилов В.П. Ротавирусный гастроэнтерит у взрослых. //Эпидемиология и инфекционные болезни.-1997.- №5.- С.51-54.
7. Онищенко Г.Г. Эпидемиологическая обстановка в Российской Федерации и основные направления деятельности по ее стабилизации / Материалы к докладу лавного государственного санитарного врача РФ на VIII Всероссийском съезде эпидемиологов, микробиологов и паразитологов.- М, 2002.- 56 с.
8. Ротавирусный гастроэнтерит. Методические рекомендации по эпидемиологии, диагностике, лечению и профилактике в Вооруженных Силах Российской Федерации./ П.И. Огарков, Ю.В. Лобзин, В.В. Малышев и др.- МО РФ, 2000.- 18с.
9. Haffejee J. The epidemiology of rotavirus infections: a global perspective // J. Pediatr. Gastroent. and Nutrition. 1995.-Vol.20, N 3.-P.275-286.



ИННОВАЦИИ В МЕМБРАННЫХ ТЕХНОЛОГИЯХ В МЕДИЦИНЕ, ФАРМАЦИИ И ЭКОЛОГИИ

Малышев В.В.¹, Змеева Т.А.¹, Клецко Л.И.¹,
Прошина Л.А.¹, Бокарев М.А.¹, Кононова С.В.²

¹Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,

²Институт высокомолекулярных соединений Российской академии наук,
Санкт-Петербург

Резюме. Нами рассмотрено современное состояние в сфере мембранных технологий применительно к потребностям медицины и экологии. Рассмотрены основные преимущества мембран для микрофильтрации и ультрафильтрации, а так же перспективы использования новых мембран на основе новых материалов. Нами проводились исследования ряда мембран на основе ароматических полиамидоимидных соединений (ПАИ) с использованием ротавирусных моделей. Вследствие хорошей растворимости ПАИ в амидных растворителях формирование асимметричных мембран на их основе возможно в одну стадию с применением водной осадительной ванны. Разработанный в Институте высокомолекулярных соединений РАН одностадийный способ синтеза ароматических ПАИ позволяет получать полимеры с необходимыми вязкостными и прочностными характеристиками. В итоге образуется мембрана в виде пористых пленок пальцеобразной морфологии и ассиметричной пористой структуры.

Ключевые слова: мембрана, микрофильтрация, ультрафильтрация, полиамидоимид, вирусы.

Abstract. We consider a modern condition in sphere of membranous technologies with reference to requirements of medicine and ecology. The basic advantages of membranes for a microfiltration and ultrafiltration and prospects of use of new membranes on the basis of new materials are considered. We carried out researches of some membrane types on the basis of aromatic polyamido-imides (PAI) using rotavirus models. Owing to good solubility of PAI in acceptable solvents - formation of asymmetric membranes on their basis is possible in one stage with application of water precipitation baths. Developed in Institute of Macromolecular Compounds of the RAS the single-stage way of synthesis of aromatic PAI promote to preparating polymers with necessary characteristics of viscosity and durability. As a result the membrane in the form of digitate morphology porous films and an asymmetric porous structure is formed.

Key words: membrane, microfiltration, ultrafiltration, polyamido-imide, viruses.



Мембранные технологии играют огромную роль в процессе проведения исследований связанных с экологией и здоровьем населения. Различные мембраны широко используются для фильтрации патогенов из объектов внешней среды, (поверхностные водоемы, сточные воды и т.д.) для последующей их детекции и разработки адекватных мер профилактики заболеваемости, что особенно важно для промышленных регионов, где риски биологического загрязнения объектов среды возрастают. Постоянное развитие мембранных технологий ведет к повышению качества и скорости исследований, что неоспоримо важно для охраны здоровья населения [2,3,8].

Все мембраны могут быть разделены на два типа: пористые и непористые. Для фильтрации бактерий и вирусов чаще всего используют пористые мембраны для микрофильтрации (поры $>50\text{нм}$) и ультрафильтрации ($2\text{ нм} < \text{размер пор} < 50\text{ нм}$). Использование непористых мембран с порами менее 2 нм для решения эпидемиологических задач нецелесообразно.

Морфология, а точнее, физическое состояние полимерного материала мембраны (кристаллический или аморфный, стеклообразный или высокоэластический) непосредственно определяет ее проницаемость. Свойства материала мембраны будут зависеть от температуры, состава разделяемой среды и т. д. [4].

Другим важным параметром мембраны является ее поверхностная пористость, поскольку именно этот параметр в комбинации с толщиной верхнего слоя или длиной поры определяет поток через мембрану. Различные микрофильтрационные мембраны имеют широкий диапазон поверхностной пористости: 5-70%. В противоположность этому ультрафильтрационные мембраны обычно имеют очень низкую поверхностную пористость, не превышающую 0,1-1%.

Микрофильтрационные мембраны, как правило, показывают относительно высокий поток и хорошее удержание вирусных частиц за счет электростатических взаимодействий. Однако размер пор микрофильтров часто намного больше, чем размер многих вирусов, что ограничивает их применение. В ряде случаев, возникает необходимость в использовании ультрафильтров с меньшим размером пор. Ультрафильтрационные мембраны также могут рассматриваться как пористые мембраны. Однако их структура существенно более асимметрична по сравнению со структурой микрофильтрационных мембран. Ультрафильтрационные мембраны состоят из тонкого верхнего слоя, находящегося на пористой подложке, причем сопротивление массопереносу почти полностью определяется верхним слоем. Большинство промышленно производимых ультрафильтрационных мембран в настоящее время изготавливается из полимерных материалов методом инверсии фаз [4].

В практике наиболее распространены в настоящее время мембраны на основе полиамидных соединений - мембраны микропористые капроновые



(ММК). Они представляют собой пористые пленки белого цвета, изготовленные мокрым способом формования с широким диапазоном размеров пор (от 0,1 до 3 мкм). Исследованиями, проведенными в ГОС НИИ ЭЧиГОС им. А. Н. Сысина, установлено, что модифицированные мембраны ММК+ способны при фильтрации зараженной воды задерживать до 100% колифагов и вирусов, например, вирус полиомиелита. Положительный заряд фильтров позволяет им удерживать не только вирусы, но и различные бактерии, токсины, микоплазму, пирогены, соответственно от 1 мкм и до молекулярного размера. Эти мембраны рекомендованы для обеззараживания воды, концентрирования и контроля содержания вирусов в водных объектах, депирогенизации водных растворов [5,6,7].

Нами, совместно со специалистами Института высокомолекулярных соединений проводились исследования ряда мембран на основе ароматических полиамидоимидных соединений (ПАИ) с использованием ротавирусных моделей. Исследования показали перспективность использования ароматических полиамидоимидов для создания фильтров для целей экологических и медицинских исследований. Вследствие хорошей растворимости ПАИ в амидных растворителях формирование асимметричных мембран на их основе возможно в одну стадию с применением водной осадительной ванны. Кроме того, ПАИ характеризуются достаточно высокой термостабильностью и инертны к большинству органических растворителей. Это позволяет изменять структуру полученной мембраны в процессе пост-обработки. Разработанный в Институте высокомолекулярных соединений РАН одностадийный способ синтеза ароматических полиамидоимидов позволяет получать полимеры с необходимыми вязкостными и прочностными характеристиками [1]. Это дало возможность формирования в условиях метода мокрого формования асимметричных диффузионных и ультрафильтрационных ПАИ-мембран различной морфологии, способные отделять ротавирусные частицы.

Сейчас идет работа над созданием мембраны с оптимальной пористой структурой. Решающее значение имеют как размер пор, так и их плотность на единицу площади. При создании предформовочной композиции на основе полиамидоимидов нами используются различные растворители (например N-метил-2-пирролидон), порообразователи (например этилацетат) в различных концентрациях, меняются условия формования. На процесс мокрого формования влияют: состав композиции, время предформования, температура формования, влажность, состав осадительной ванны.

Для получения мембран различной морфологии при формовании используются различные приемы: термическая обработка, обжиг, использование ряда осадительных ванн с различными осадителями, использование нескольких растворителей и т.д.



В итоге образуется мембрана в виде пористой пленки пальцеобразной морфологии и ассиметричной пористой структуры. Верхний слой формируется более плотным (скин-слоем), он имеет поры определяющие транспортные свойства мембраны. Толщина скин-слоя влияет на проницаемость мембраны, чем он толще, тем меньше будет поток, но чем он тоньше, тем меньше механическая прочность мембраны. Конечная толщина – компромисс между проницаемостью и механической прочностью, зависящий от условий и целей последующего использования мембраны.

Пальцеобразные поры пересекают всю мембрану от скин-слоя к противоположной стороне, такие поры чаще всего не очень устойчивы к нагрузкам и перепадам давления. В этом плане ПАИ обладает уникальной структурой позволяющей создавать механически прочные, упругие (хорошо восстанавливаются при деформации) мембраны с пальцеобразными порами.

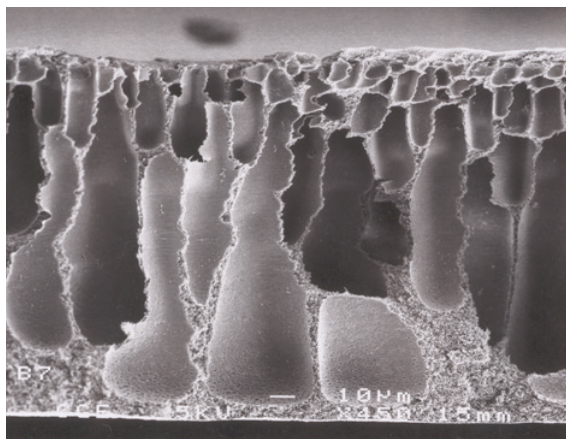


Рис.1.
Электронная микрофотография низкотемпературного скола ПАИ-мембраны

Морфология мембраны также зависит от условий высушивания. При высушивании мембрана сжимается и размер пор уменьшается. Чтобы этого избежать, если стоит необходимость сохранить больший размер пор, то высушивание мембраны проходит при натяжении.

Таким образом, новые мембраны испытываются нами как на фильтрационных установках под давлением, так и на вакуумных. Именно создание мембран для вакуумной фильтрации, способных отсекают из исследуемого материала все эпидемически значимые вирусные частицы, обеспечивая при этом максимально возможный поток в жидкости и является главной нашей задачей.



Это позволит увеличить скорость концентрирования кишечных вирусов в жидких средах и повысить качество исследований материалов окружающей среды на предмет этиологической объективизации контаминации вирусными агентами, что неосцимемо важно для решения эпидемиологических и экологических задач в учреждениях Роспотребнадзора и контрольных лабораториях других ведомств.

Литература:

1. Кононова С.В., Кузнецов Ю.П., Ромашкова К.А., Кудрявцев В.В. Взаимосвязь условий формирования и структуры ассиметричных мембран на основе поли-дифенилоксида-*N*-фенилфталымиды. // Высокмолекулярные соединения. – Серия А. – том 48. - №49. – 2006. – с.1647-1654
2. Макаров. Д.А. Мембранные технологии в экологии и медицине. Современное состояние и перспективы. // Современные вопросы профилактической медицины: сб. науч. тр. молодых ученых Всерос. науч.-практ. конф. с международным участием «Охрана здоровья населения промышленных регионов: стратегия развития, инновационные подходы и перспективы», 28-30 окт. 2009 г., Екатеринбург, под ред. С.В. Кузьмина. – Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2009. – С.159
3. Макаров Д.А., Малышев В.В., Кононова С.В. Мембранные технологии в медицине и экологии. // Методические проблемы изучения, оценки и регламентирования биологических факторов в гигиене окружающей среды. Материалы пленума.16-17 декабря 2009 г. // Под ред. акад. РАМН Ю.А. Рахманина. - С. 154
4. Мулдер М. Введение в мембранную технологию // М.: Мир. – 1999 г.
5. Санамян А.Г., Р.А. Дмитриева, Т.В. Доскина, А.Е. Недачин, А.В. Тарасов, Ю.А.Федотов. Мембрана и мембранный модуль для вирусологического анализа воды // Критические технологии -Мембраны № 3 (27) 2005г. - с. 28-33.
6. Санамян А.Г. Сравнительная оценка эффективности различных фильтрующих мембран отечественного производства в отношении концентрирования вирусов // Материалы конференции «Развитие научного творчества молодежи - объект постоянного внимания В .А. Рязанова» в сборнике Теоретические основы и практические решения проблем санитарной охраны атмосферного воздуха. Москва , 2003 г. -346-349
7. Санамян А.Г. Оценка эффективности концентрирования вирусов из воды различного вида водопользования с использованием мембран-



ной фильтрации // *Использование мембранной технологии, Санкт-Петербург, 2005 г. - с. 72-73.*

8. *Leera Kittigul, Porntip Khamoun, Dusit Sujirarat et al. An Improved Method for Concentrating Rotavirus from Water Samples // Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 96: 000-000. - 2001.*

ЭКСПРЕСС-МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ KLEBSIELLAE PNEUMONIAE

**Меджидова Х.М.¹, Кашутин А.Н.², Потапов В.В.², Перервенко О.В.¹,
Дворецкая Е.А.¹, Кулешова А.В.¹, Малышев В.В.³**

¹Филиал №2 1477 Военно-морского клинического госпиталя флота,

²Камчатский государственный технический университет,
г. Петропавловск-Камчатский,

³Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург

Основными возбудителями внутрибольничных инфекций (ВБИ) в стационарах являются *S. aureus*, *K. pneumoniae*, грамотрицательные неферментирующие бактерии (*P. aeruginosa*, *A. baumannii*), *Enterococcus* spp., которые способны вызывать инфекции кровотока, мягких тканей, дыхательных и мочевыводящих путей, особенно у пациентов, находящихся в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). Эти микроорганизмы представляют угрозу, как для пациентов, так и для медицинского персонала, так как они способны длительно сохраняться в больничной среде, распространяться при несоблюдении изоляционно-ограничительных и гигиенических мероприятий.

Одним из наиболее часто встречающихся в стационаре инфекционных осложнений является нозокомиальная пневмония (НП). Клинические и экономические последствия НП очень значимы, особенно для больных, находящихся на искусственной вентиляции легких (ИВЛ).

По результатам ретроспективного анализа спектра возбудителей внутрибольничных пневмоний за 2000-2016 гг. в нашем стационаре преобладающими являлись грамотрицательные микроорганизмы: *Pseudomonas aeruginosa* (11,6%) и *Klebsiella pneumoniae* (35,6%). Однако несмотря на тяжелое течение пневмоний, вызванных *Ps. aeruginosa*, за 16 лет, нами не обнаружено ни одного случая летальных исходов. Практика показала, что наиболее «проблемной» является ВБИ, вызванная *Klebsiella pneumoniae* (в 3-х случаях наблюдались летальные исходы). Выявление *Klebsiella pneumoniae* в спектре возбудителей внутриболь-



ничной пневмонии (в особенности у больных, находящихся длительно на ИВЛ) в диагностическом титре (10⁻⁴), сопровождалось 100% летальным исходом.

Наши результаты совпадают с данными из последних литературных источников. В исследованиях проведенных в 2007-2008гг. (Р.В. Иванчик, С.Н. Козлов, г. Смоленск), клебсиелла отнесена не только к «безусловным лидерам» внутрибольничных пневмоний, но и к наиболее частым возбудителям фатальных внебольничных пневмоний «не отвечающих» на стартовую терапию, и характеризующихся высоким % летальных исходов. В работах других авторов также доказана достоверная высокая летальность пневмоний, вызванных *Klebsiella pneumoniae*, по сравнению с пневмониями другой этиологии (Paganin F., Lilienthal F., 2014). Установлено, что выявление клебсиеллы в качестве этиологического фактора является независимым фактором риска летального исхода (Kang C.L., Song J.H., 2008). Причину таких результатов следует искать и в особенностях механизмов антибиотикорезистентности клебсиелл и в способности клебсиелл активно деградировать защитные факторы макроорганизма. В настоящее время доказано, что клебсиелла секретирует ряд факторов, направленных на инактивацию защитных сил организма хозяина, таких, как антилизоцимная, антиинтерфероновая, антикомплементарная и антиглобулиновая активности. Особенностью клебсиеллы также является его способность вызывать некротическую пневмонию. В участках некроза легочной ткани идет активное размножение условно-патогенной, анаэробной микрофлоры, преимущественно бактероидов, что значительно усугубляет тяжесть состояния больного.

На основании вышеизложенного можно сделать вывод, что нозокомиальные пневмонии клебсиеллезной этиологии требуют особого подхода к выбору лечения, которое должно проводиться в ранние сроки с учетом данных определения антибиотикорезистентности *in vitro*.

В результате многочисленных исследований последних лет доказано, что эмпирическое использование антибактериальной терапии по существующим схемам является независимым фактором риска летальных исходов.

В настоящее время для проведения бактериологических исследований разработан и представлен на рынке широкий спектр дифференциальных питательных сред нового поколения, которые позволяют идентифицировать различные микроорганизмы непосредственно в процессе культивирования. Использование хромогенных (флуорогенных) сред при исследовании проб биологического материала на этапе первичного посева делает возможным получение ответа только через 18-24 ч.

Подготовка культуры к исследованию и сама процедура тестирования классическими методами (например, диско-диффузионным методом пограничных концентраций с использованием автоматических анализаторов или зарегистрированных наборов реагентов) также занимают 18-48 часов, что задерживает назначение рациональной антимикробной терапии.



Существуют также ускоренные методы определения антибиотикорезистентности выделенных микроорганизмов, использование которых имеет важное практическое значение для больных отделений реанимации и интенсивной терапии. Использование этих сред при первичном посеве биоматериала позволяет уже в ранние сроки выдать предварительную информацию о возможности использования для терапии тех или иных антибиотиков. Однако практическое использование этих методов не всегда представляется возможным из-за отсутствия необходимых сред и реактивов.

Разработка и усовершенствование методов ускоренного определения антибиотикорезистентности возбудителей нозокомиальной инфекции является актуальной проблемой практической медицины.

Цель работы: Нами в настоящей работе ставилась задача получения варианта питательной среды для ускоренного определения антибиотикорезистентности *Klebsiella pneumoniae*.

Материалы и методы: В работе использовались белковые основы, доступные для практических лабораторий: казеиново-дрожжевой агар, Columbia агар (колумбийский агар), эритрит-агар, АГВ. В качестве стимуляторов роста использовались наночастицы кремнезема, полученные по технологии, разработанной авторами на основе гидротермальных растворов с применением процессов ультрафильтрации и вакуумной сублимации (патент РФ № 2259318, приоритет - 08.08.2003). Для получения наночастиц кремнезема в качестве исходной среды использовались природные гидротермальные растворы (табл. 1).

Таблица 1.

Микроэлементный состав гидротермального раствора

Компонент	Na+	K+	Li+	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Fe ²⁺ , 3+	Al ³⁺	Cl -	SO ₄ ²⁻	НСО ₃ ⁻	СО ₃ ²⁻	НЗВО ₃	SiO ₂ общ
Концентрация, мг/л	282	48,1	1,5	2,8	4,7	∇	∇	251,8	220,9	45,2	61,8	91,8	780

Согласно способам предложенными авторами на основе гидротермального раствора получены разные формы нанокремнезема: стабильный водный золь кремнезема, гель и нанопорошок кремнезема. В нашей работе использовался стабильный водный золь.

Для контроля экспериментальных образцов питательных сред использовались музейные тест-штаммы *Klebsiella pneumoniae*, полученные из ГИСК им. Л.А. Тарасевича, а также 18 штаммов *Klebsiella pneumoniae*, полученными от больных пневмонией.



Биологический контроль разрабатываемых сред проводился согласно «Методологическим рекомендациям к контролю питательных сред по биологическим показателям» и «Методическим рекомендациям к контролю питательных сред по параметрам роста микроорганизмов в процессе их культивирования». Определяли следующие биологические показатели: чувствительность среды, скорость роста, показатель прорастания, ингибирующие свойства среды. Определение параметров роста проводили следующим образом:

- оптическую плотность культуры определяли с помощью фотокolorиметра и выражали в экстинции (ext);
- длительность лаг-фазы и экспоненциальной фазы определяли в часах и выражали графически;
- максимальную удельную скорость роста микроорганизмов (max) определяли в экспоненциальной фазе и рассчитывали по формуле Н.Д. Иерусалимского

$$G \max = \frac{\lg x_1 - \lg x_0}{t_1 - t_0} - 2,3$$

где x_1 и x_2 – концентрация микроорганизмов в момент времени t_1 и t_0 .
- минимальное время генерации микроорганизмов (G min) рассчитывали по формуле :

$$G \min = \frac{\lg_2}{M} = \frac{0,693}{M}$$

где M- удельная скорость роста.

Результаты и обсуждение. Нами разработан вариант хромогенной питательной среды для ускоренного определения антибиотикорезистентности *Klebsiella pneumoniae*.

На рис. 1, рис.2 представлены образцы сред с различными хромогенными субстратами на стадии разработки. Рис.3 содержит окончательный вариант среды, обозначенный цифрами 4 и 5.

Вокруг дисков с антибиотиками через 2,5 часа определяются четкие бесцветные зоны различных размеров в зависимости от степени резистентности клебсиеллы к антибактериальным препаратам. Зоны, где рост микрофлоры не подавляется антибиотиками, окрашиваются в яркий малиновый цвет вследствие восстановления краски, которая входит в состав среды, продуктами метаболизма микробных клеток в лаг-фазе своего развития (видимый рост микроба на поверхности чашек к этому времени еще отсутствует).

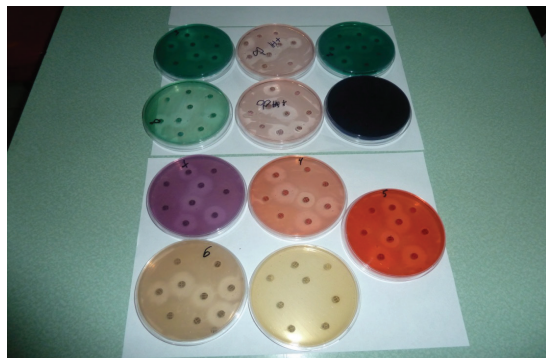


Рис.1.
Образцы сред с хромогенными субстратами в горизонтальной проекции

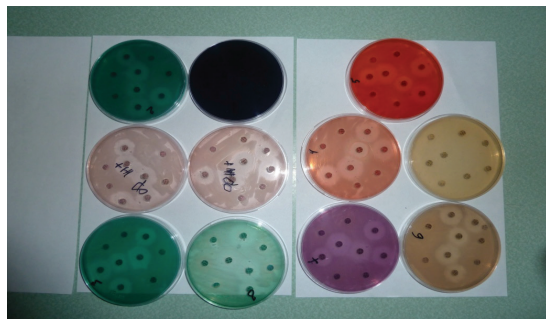


Рис.2.
Образцы сред с хромогенными субстратами в сагитальной проекции

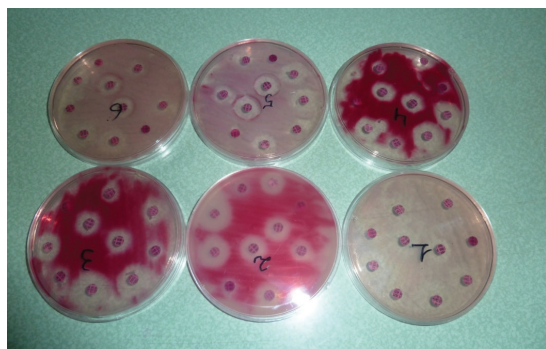


Рис.3.
Варианты хромогенной питательной среды для ускоренного определения
антибиотикорезистентности *Klebsiella pneumoniae*



Также необходимо подчеркнуть, что эта информация является предварительной и должна быть подтверждена дальнейшими исследованиями через 18-24 часа, которые выполнены с соблюдением методов и сроков, предусмотренных унифицированными методами.

Выводы. 1. Нами разработан вариант хромогенной питательной среды для ускоренного определения антибиотикорезистентности клебсиелл. Среда конструирована на белковой основе, находящейся в доступе для практических лабораторий. В качестве стимуляторов роста использованы микроэлементы, полученные из термального сырья (способ получения подтвержден патентом). Подобран оптимальный состав компонентов среды, который позволяет получить предварительную информацию об антибиотикорезистентности через 2-2,5 часа.

2. Использование информации об антибиотикорезистентности, полученной через 2-2,5 часа снижает риск летального исхода и способствует сокращению сроков госпитализации больного и пребывания его в ОРИТ.

РОЛЬ ПОПУЛЯЦИЙ Т- И В-ЛИМФОЦИТОВ В ИММУНОПАТОГЕНЕЗЕ АТЕРОСКЛЕРОЗА

Москалев А.В., Саранцева Н.Д.

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург

Резюме. Приводятся современные данные по патогенезу атеросклероза. Показаны основные интимные механизмы тесной взаимосвязи иммуно-воспалительной и липидной теории развития данной патологии. Охарактеризована роль иммунокомпетентных клеток в индукции аутоиммунных реакций, осложняющих течение атеросклероза. По новому показана роль Toll-подобных рецепторов, молекул межклеточной адгезии: *Inter-cellular adhesion molecule 1* и *Vascular cell adhesion protein 1*, *Very late antigen-4* по распознаванию эндогенных антигенов и антигенов микроорганизмов, а также активации сигнальных путей при атеросклерозе. Toll-подобные рецепторы играют ключевую роль в развитии атеросклероза, благодаря паттерн-распознающей функции бактериальных, вирусных и других патогенов клетками иммунной системы, участвующих в иммунопатогенезе атеросклероза (моноциты, макрофаги, нейтрофилы, дендритные клетки, а также естественные киллеры, эозинофилы, лимфоциты).

Отражены механизмы последующей стимулирующей транскрипции многих провоспалительных генов, кодирующих синтез воспалительных регуляторных



субстанций, включая цитокины: фактор некроза опухолей α , интерлейкины: IL-1 α , IL-6, IL-12, интерфероны α/β , хемокины. Важным аспектом в иммунопатогенезе является нарушение соотношений T-хелперов 1 и T-хелперов 2, что способствует формированию атеросклеротической бляшки, а также ее возможной деструкции. Наряду с этим установлено, что дефицит цинка приводит к снижению эффективности иммунологических реакций, способствующих в итоге развитию атеросклероза.

Ключевые слова: атеросклероз, иммунология, цитокины, хемокины, лимфоциты, воспаление, липопротеины низкой плотности, микроорганизмы, экзогенные и эндогенные антигены.

Key words: atherosclerosis, immunology, cytokines, chemokines, lymphocyte, an inflammation, lipoproteins low density, microorganisms, exogenous and endogenous antigens.

Введение. Атеросклероз является важной медико-социальной проблемой. В его основе лежат сложные иммунопатогенетические механизмы, которые включают комбинированную дислипидемию, эндотелиальную дисфункцию, заканчивающиеся неэффективным иммунным воспалением. Таким образом, атеросклероз является полиэтиологическим заболеванием и развивается под влиянием, как правило, одновременно нескольких причин. Хорошо изученными этиологическими факторами атеросклероза являются атерогенная гиперлипопропротеинемия, гиперхолестеринемия, гипергомоцистеинемия, наследственная предрасположенность [1, 8]. Роль генетического фактора является определяющей в развитии атеросклероза у больных с генетическим дефектом синтеза рецепторов к липопротеинам низкой плотности (ЛПНП). Иммуновоспалительные процессы могут способствовать индукции аутоиммунных реакций, которые развиваются при атеросклерозе. Основными антигенами при атеросклерозе, в ответ на которые продуцируются соответствующие антитела, являются модифицированные (окисленные) ЛПНП, HSP60 и (52-G-P1). Окисленные ЛПНП становятся аутоантигенами. В ответ на их появление продуцируются антитела, в последующем формируются иммунные комплексы, эти процессы усугубляют течение атеросклеротического процесса, способствуют накоплению в макрофагах липидов, и превращению их в пенные клетки [1, 3, 12].

Цель исследования. Учитывая, что в развитии воспалительного процесса участвуют и клетки иммунной системы: лимфоциты, моноциты, а также клетки эндотелия, а их роль в иммунопатогенезе атеросклероза представлена относительно разрозненно. Поэтому представляется необходимым рассмотреть и обобщить их основные иммунопатогенетические эффекты по данным отечественной и зарубежной литературы.



Результаты и обсуждение. Известно, что межклеточные взаимодействия при воспалении осуществляются с помощью молекул адгезии, цитокинов, факторов роста. Медиаторами эндотелиального воспалительного ответа, играющего важную роль в атерогенезе, являются молекулы врожденного иммунитета – Toll-подобные рецепторы (Toll-like receptor, TLR; от нем. toll — замечательный) – класс клеточных рецепторов с одним трансмембранным фрагментом, которые распознают консервативные структуры микроорганизмов и активируют клеточный иммунный ответ. TLRs). Это, в первую очередь, TLR2 (распознают – бактериальные диацил липопептиды, липотейхоевые кислоты, грамположительные бактерии, зимозан клеточной стенки грибов, белки теплового шока, β -дефензины, их экспрессируют мононуклеары крови, дендритные клетки, тучные клетки). TLR4 (распознают ЛПС грамотрицательных бактерий, белки теплового шока 60, 70, гиалурон, легочный сурфактантный белок А, фибронектин, фибриноген, β -дефензины). В ряде исследований показано, что эти два основных рецептора врожденного иммунитета играют ключевую роль в развитии атеросклероза [2, 4, 8, 10].

В настоящее время установлено, что эндогенные лиганды (липопротеин-липаза, β 2-гликопротеин, липопротеин α , белки теплового шока, коллаген, фибриноген) также активируют рецепторы врожденного иммунитета и запускают асептическое воспаление. Кроме того, окисленные фосфолипиды, насыщенные жирные кислоты и липопротеин А вызывают апоптоз макрофагов путем воздействия на CD36 и TLR2. Последние работы доказали увеличение экспрессии TLR1, TLR2, TLR4, причем преимущественно макрофагами и эндотелиальными клетками у людей с атеросклеротическими изменениями сосудистой стенки [9, 11]. Увеличение экспрессии TLRs клетками, вовлеченными в атерогенез, приводит к активации сигнального пути, обусловленного TLRs и, таким образом, вызывает каскад внутриклеточных реакций, способствуя прогрессированию атеросклероза. Активация TLR4 определенными жирными кислотами, стимулирует внутриклеточные киназы, что в итоге обеспечивает транслокацию нуклеарного фактора NF- κ B в ядро клетки с последующей стимуляцией транскрипции многих провоспалительных генов, кодирующих синтез воспалительных регуляторных субстанций, включая цитокины (фактор некроза опухолей (TNF- α), интерлейкины: IL-1 α , IL-6, IL-12, интерфероны: IFN α/β , хемокины, адипокины [4, 13]. Стимуляция лигандами TLR-2 или TLR-4 сопровождается усилением экспрессии генов, кодирующих образование молекул адгезии. Установлено, что они принимают участие в атерогенезе, способствуя проникновению моноцитов и Т-лимфоцитов в стенку сосудов и отложению липидов. Межклеточный контакт Т-лимфоцитов и макрофагов способствует активации макрофагов и секреции ими протеаз, приводящих к деградации фибриллярного матрикса, ремодулированию повреждений и разрыву бляшек. В результате усиливается экспрессия тканевого фактора, усиливающего тромбогенез [5, 14, 18].



В физиологических условиях эндотелиальные клетки не экспрессируют молекулы адгезии. Концентрация последних на поверхности эндотелиальных клеток увеличивается при действии различных факторов, активирующих эндотелий. Дислипидемия способствует экспрессии селектина и Inter-cellular adhesion molecule 1, молекула межклеточной адгезии (ICAM-1), которые инициируют привлечение и развитие фаз контактной и прочной адгезии лейкоцитов и эндотелиальных клеток [3, 6]. Продолжающаяся стимуляция усиливает экспрессию молекул ICAM-1 и VCAM-1 (Vascular cell adhesion molecule 1, «вазкулярная молекула клеточной адгезии 1»), что облегчает адгезию лейкоцитов путем взаимодействия с very late-activation antigen-4 (VLA-4) – корецептором VCAM-1 на поверхности моноцитов. Снижение экспрессии селектина или молекул адгезии на эндотелиальных клетках сосудов уменьшает экстравазацию лейкоцитов и последующее развитие атеросклероза. Секреция хемоаттрактантов, таких как IL-8 и MCP-1 (monocyte chemoattractant protein 1, моноцитарный хемотаксический протеин-1) генерируют хемокиновый градиент, вследствие чего продолжается миграция воспалительных клеток через интиму сосудов [6, 7, 14, 15].

Среди экзогенных факторов, способствующих развитию атеросклероза, в первую очередь, необходимо отметить следующие: *Porphyromonas gingivalis*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, бактериоиды, стрептококки, энтеровирусы, цитомегаловирусы. Эти инфекционные агенты, в большей части хламидии, также содержат белок теплового шока HSP65, очень близкий белку теплового шока у человека HSP60. Механизм развития атеросклероза заключается в следующем. Различные патогенные факторы (вирусы, цитокины, гемодинамические силы, окисленные ЛПНП и др.) вызывают повышенную экспрессию на эндотелиоцитах HSP60, сходного с HSP65 хламидии и индуцируют образование антител к антигену HSP65. При воздействии на эндотелий указанных патогенных факторов и экспрессии на эндотелиоцитах HSP60 антитела к белку теплового шока хламидии HSP65 перекрестно реагируют с белком теплового шока человека HSP60 (в силу их антигенного сходства) и вызывают повреждение эндотелия с включением дальнейших механизмов развития атеросклероза. Антиген p2-GPI – это циркулирующий в крови белок, способствующий прикреплению антиэндотелиальных антител к эндотелию.

К другим иммунопатогенетическим маркерам воспаления относятся цитокины, которые являясь основными межклеточными медиаторами иммунной системы, участвуют во многих физиологических и патологических реакциях организма и дисфункции эндотелия. Современная оценка атерогенеза с позиций иммунного воспаления позволила рассматривать кинетику клеток стенки артерий с учетом экспрессии цитокинов и межклеточной кооперации: макрофаг – Т-лимфоцит – гладкомышечная клетка.



В начальных стадиях развития атеросклероза первыми в интиму артерий мигрируют Т-лимфоциты, активированные в Т-зоне периферических лимфатических узлов, регионарных к поврежденному участку сосуда. Их стимулируют дендритные клетки в соответствующем месте сосудистой стенки, с маркерами активации – CD86 и CD83 для Т-клеток. За ними идут моноциты, макрофаги и небольшое количество В-клеток, а самыми последними, сосудистые гладкомышечные клетки (ГМК) [6, 7, 14, 15]. Таким образом, одним из ведущих иммунопатогенетических воспалительных процессов в развитии атеросклероза является Т-клеточное звено системы иммунитета. Представляется, что для развития атеросклероза необходимы именно Т-лимфоциты, в то время как В-клетки и антитела лишь ускоряют и поддерживают процесс. Рядом авторов показано, что эндотелий-зависимый механизм связывания мононуклеаров при атерогенезе протекает так же, как и при любой острой или хронической воспалительной реакции. Иммуногистохимические исследования показали, что в атеросклеротических поражениях артерий, наряду с макрофагами моноцитарного происхождения, присутствует большое число Т-лимфоцитов [17, 20]. Установлено также, что в зоне начальных атеросклеротических поражений аорты, независимо от возраста, Т-лимфоциты преобладают над макрофагами [8, 11], а в атеросклеротических бляшках они могут составлять около 20% от общей клеточной популяции. В краевых отделах и покрышке бляшек Т-лимфоциты и макрофаги составляют около 40% от общей популяции клеток, а в липидном ядре (атероме) – около 70% [5, 13].

Продолжающееся воспаление в стенке артерии приводит к увеличению количества макрофагов и Т-лимфоцитов, которые мигрируют из периферической крови и делятся в пределах повреждения. Активация этих клеток приводит к высвобождению протеолитических ферментов, цитокинов, хемокинов и факторов роста, способных индуцировать дальнейшее повреждение и, в конце концов, приводить к фокальному некрозу [1, 15].

Провоспалительные цитокины способствуют развитию воспаления эндотелия путем активации эндотелиоцитов, макрофагов, стимуляции продукции свободных радикалов, протеолитических ферментов и значительного повышения коагулянтной активности. Данная субпопуляция поддерживает аутоиммунитет. Однако при недостатке ко-стимулирующей молекулы CD28 Т-хелперы-1 начинают активно продуцировать γ -интерферон, действие которого прямо связано с разрывом атеросклеротической бляшки, сердечно-сосудистой заболеваемостью и атеросклеротическим воспалением. Увеличенные уровни CD4+/CD28- Т-клеток взаимосвязаны с субклиническим атеросклерозом и эндотелиальной дисфункцией. Уровень этих клеток так же повышен у пациентов с острым коронарным синдромом и обычно отражает серьезность заболевания [3, 4, 20].



T-хелперы-2, напротив, продуцируют цитокины, обладающие противовоспалительным эффектом (интерлейкины-4 и 10), а также тканевый фактор роста β . Эти вещества стимулируют пролиферацию гладкомышечных клеток, развитие фиброза, усиливают процессы заживления. T-хелперы-2 способны активировать специфические B-лимфоциты к продукции соответствующих антител-иммуноглобулинов. В настоящее время установлено, что IL-1 и IL-6 способствуют дифференцировке CD4+ T-клеток в Th17, а IL-2 и IL-23 модулируют дифференцировку Th17, которые продуцируют IL-17, IL-21, IL-22. T хелперы памяти продуцируют IL-17. Th17 обеспечивают защиту хозяина от внеклеточно паразитирующих микроорганизмов, поддерживают механизмы воспаления и аутоиммунитет.

Нейтрофилы увеличивают проявление атеросклероза, формируют аневризму. Через CXCR4 (хемоаттрактант нейтрофилов и T-лимфоцитов) вызывают гомеостатическое увеличение нейтрофилов в бляшке. Тучные клетки ингибируют функцию предотвращения атерогенеза. Моноциты, макрофаги экспрессируют рецепторы хемокинов – CCR2, CCR5, CX3CR1. Вступают в контакт с лимфоцитами (CD40-CD40L) и активируют развитие бляшек. Дефицит T-лимфоцитов активирует атеросклероз. T-хелперы 1(Th1) – аттенуируют атерогенез, Th2 ингибируют атерогенез, регуляторные T-лимфоциты – CD4+CD25+FoxP3+, IL-10 ингибируют воспаление сосудов и аттенуируют атеросклероз, CD8-лимфоциты способствуют формированию аневризмы. Субпопуляция T-лимфоцитов – Th2, напротив, продуцируют цитокины, обладающие противовоспалительным эффектом (IL-4, 10). Эти вещества стимулируют пролиферацию гладкомышечных клеток, развитие фиброза, усиливают процессы заживления. В составе атеросклеротической бляшки обнаружен особый клон T-лимфоцитов, направленный против окисленных ЛПНП, и установлен высокий риск развития инфаркта миокарда у пациентов, страдающих ишемической болезнью сердца с высокими титрами антител к окисленным ЛПНП. Таким образом, степень активности бляшки, ее стабильность или нестабильность зависят от взаимоотношений Th1 и Th2, а также цитокинов, ими секретируемых [8, 16, 17].

Активированные лимфоциты и моноциты участвуют в «метаболическом взрыве», высвобождая активные радикалы, участвующие в реакциях перекисного окисления липидов. При этом происходит повреждение эндотелиоцитов с последующим формированием атеросклеротической бляшки. Экспрессия провоспалительных цитокинов и факторов роста сопровождается пролиферацией клеток [4 – 7]. В частности IL-1 α рассматривается как ключевой медиатор, вызывающий стимуляцию экспрессии гена, кодирующего индуцибельную синтазу оксида азота (NOS2), которая приводит к образованию NO, активных форм кислорода и повреждению клеток. (NOS – группа ферментов, катализирующих образование оксида азота и цитруллина из аргинина, кислорода и никотинамидадениндинуклеотидфосфата. Оксид азота играет важную роль в организме



млекопитающих, он вырабатывается фагоцитами в процессе борьбы с бактериями, но также участвует и в нейротрансмиссии, регулинровке кровообращения, других аспектах функционирования разных органов и тканей). Проявление цитотоксичности IL-1 α происходит только при совместном его действии с IFN- γ и/или TNF- α . Повышенные уровни IL-1 α , IL-1 β , TNF- α считаются маркерами генерализованного воспаления, индуцируют апоптоз клеток, с ними связана ранняя стадия их деструкции. TNF- α стимулирует в лейкоцитах и эндотелиальных клетках секрецию других провоспалительных цитокинов, усиливает экспрессию адгезивных молекул на поверхности клеток (что обуславливает воспалительную инфильтрацию тканей), активирует метаболизм арахидоновой кислоты (соответственно, продукцию простагландинов и тромбксана), что в итоге приводит к повреждению сосудов и тромбообразованию. Значительное повышение уровня TNF- α происходит при возникновении сосудистых осложнений [3, 5, 20]. Отмечалось и значительное повышение профилей IL-6. Особенно высокие уровни IL-6 отмечались у лиц с кардиоваскулярными осложнениями. В настоящее время активно изучается роль изоформы трансформирующего ростового фактора β 1 (TGF- β 1) в атерогенезе. Большое значение в дестабилизации атеросклеротической бляшки имеет хроническое воспаление, при котором отмечается дефицит TGF- β 1, что и является одним из факторов дестабилизации атеросклеротической бляшки. Еще одним фактором нестабильности атеромы можно рассматривать ее васкуляризацию или неоангиогенез, в процессе которого ведущую роль играют различные факторы роста (тромбоцитарный фактор роста, фактор роста эндотелия сосудов), в том числе и TGF- β 1. Результатом отрицательного «перепроизводства» цитокинов (TGF- β 1, фактора роста фибробластов, тромбоцитарного фактора роста) является гиперпролиферация фибробластов, повышенный синтез коллагена и, как следствие, последующий фиброз тканей. Изучение динамики TGF- β 1 при ишемической болезни сердца имеет фундаментальное и практическое значение с позиций поиска средств для целенаправленного воздействия на процессы воспаления, связанные с атеросклерозом [1, 3, 11, 17].

При атерогенезе в ответ на модифицированные липопротеиды низкой плотности инициаторами иммунного воспаления выступают Т-клетки, а их медиаторы играют решающую роль в формировании атеросклеротических бляшек. Пусковым механизмом разрыва фиброзной покрышки является апоптоз эпителиоцитов и гладкомышечных клеток, а гибель активированных Т-лимфоцитов и макрофагов стабилизирует этот процесс. Таким образом, активация TLRs, секреция провоспалительных цитокинов, хемокинов, факторов роста, молекул адгезии в клетках крови и эндотелии сосудов может рассматриваться как важное звено в развитии сосудистых осложнений, а рассмотренные иммунные механизмы могут быть использованы для выявления доклинических



признаков атеросклеротического поражения сосудов и своевременно воздействовать на основные звенья атерогенеза.

Литература:

1. Глицбург, А. Л. Экзогенные и эндогенные факторы в патогенезе атеросклероза. Рецепторная теория атеросклероза / А.Л. Глицбург, В.Г. Лиходед, В.М. Бондаренко // *Росс. кардиол. журн.* – 2010, № 2. – С. 92–96.
2. Лиходед, В. Г. Микробный фактор и Toll-подобные рецепторы в патогенезе атеросклероза / В.Г. Лиходед, В.М. Бондаренко // *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* – 2009. – № 6. – С. 107–112.
3. Москалев, А.В. Многогранность эффектов трансформирующего ростового фактора β и иммунопатология / А.В. Москалев, А.С. Рудой, А.И. Карпищенко // *Клиническая лабораторная диагностика (Материалы второго Российского конгресса лабораторной медицины, 12–14 октября 2016)*. – 2016. – Т. 61, № 9. – С. 543.
4. Москалев, А.В. Роль нейтрофильных гранулоцитов в иммунновоспалительном процессе / А.В. Москалев, А.С. Рудой, В.Я. Апчел, А.Б. Шангин // *Вестник Российской Военно-медицинской академии.* – 2016. – № 4 (56). – С. 191 – 195.
5. Нагорнев, В.А. Атерогенез как иммунновоспалительный процесс / В.А. Нагорнев, А.Н. Восканьянц // *Вестник РАМН.* – 2004. – № 10. – С. 50–52.
6. Рудой, А.С. Структурные аномалии сердца / А.С. Рудой, А.В. Москалев, В.Н. Цыган [и др]. // Минск. – 2016. – 115 с. – (Евразийская ассоциация терапевтов, Белорусское научное общество кардиологов, Российское научное медицинское общество терапевтов; наднациональные (международные) рекомендации).
7. Рудой, А.С. Аортопатии при наследуемых нарушениях соединительной ткани / А.С. Рудой, А.В. Москалев, В.Н. Цыган [и др.] // Минск. – 2016. – 108 с. – (Евразийская ассоциация терапевтов, Белорусское научное общество кардиологов, Российское научное медицинское общество терапевтов; наднациональные (международные) рекомендации).
8. Сердюков, В.Ю. Донозологический атеросклероз и ассоциированные состояния: значение, диагностика, лечение / В.Ю. Сердюков [и др.] // *Вестник Российской Военно-медицинской академии.* – 2015. – № 3 (51). – С. 234–238.
9. Atkinson, M. A. Fatal attraction: chemokines and type 1 diabetes / M.A. Atkinson, S.B. Wilson // *J. Clin. Invest.* – 2002. – № 110 (11). – P.1611–1613.



10. Bakin, A.V. *p38 mitogen-activated protein kinase is required for TGFbeta-mediated fibroblastic transdifferentiation and cell migration* / A.V. Bakin // *J. Cell. Sci.* – 2002. – Vol. 115. – P. 3193–3206.
11. Coll, B. *Monocyte chemoattractant protein-1 and atherosclerosis: is there room for an additional biomarker* / B. Coll [et al.] // *Clin. Chim. Acta.* – 2007. – № 383 (1–2). – P. 21–29.
12. Chen, M. *Lisofylline, a novel anti-inflammatory agent, protects pancreatic b-cells from proinflammatory cytokine damage by promoting mitochondrial metabolism* / M. Chen [et al.] // *Endocrinology.* – 2002. – № 143 (6). – P. 2341–2348.
13. Curtiss, L. K. *Emerging role of Toll-like receptors in atherosclerosis* / L. K. Curtiss, P. S. Tobias // *J. Lipid Res.* – 2009. – № 50 – P. 340–345.
14. Ghosh, T. K. *Toll-like receptor (TLR) 2–9 agonists-induced cytokines and chemokines: comparison with T cell receptor-induced responses* / T.K. Ghosh, D. J. Mickelson, J. Fink // *Cell Immunol.* – 2006. – № 243 (1). – P. 48–57.
15. Janssens, S. *Role of Toll-like receptors in pathogen recognition* / S. Janssens, R. Beyaert // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2003. – № 16. – P. 637–646.
16. Katsargyris, A. *Enhanced TLR4 endothelial cell immunohistochemical expression in symptomatic carotid atherosclerotic plaques* / A. Katsargyris [et al.] // *Expert Opin Ther Targets.* – 2010. – № 14. – P. 1–10.
17. Krusinova, E. *Fatty acid binding proteins in adipose tissue: a promising link between metabolic syndrome and atherosclerosis* / E. Krusinova, T. Pelikanova // *Diabetes Res Clin Pract.* – 2008. – № 82 (2). – P. 127–134.
18. Li J.M. *Interleukin 18 binding protein (IL18-BP) inhibits neointimal hyperplasia after balloon injury in an atherosclerotic rabbit model* / J.M. Li [et al.] // *J. Vasc. Surg.* – 2008. – № 47(5). – P. 1048–1057.
19. Monaco, C. *Toll-like receptor-2 mediates inflammation and matrix degradation in human atherosclerosis* / C. Monaco [et al.] // *Circulation.* – 2009. – № 120. – P. 2462–2469.
20. Moustakas A. *Mechanisms of TGF-beta signaling in regulation of cell growth and differentiation* / A. Moustakas [et al.] // *Immunol. Lett.* – 2002. – Vol. 82. – P. 85–91.
21. Siegel, P. *Cytostatic and apoptotic actions of TGF-beta in homeostasis and cancer* / P. Siegel, J. Massague // *Nat. Rev. Cancer.* – 2003. – Vol. 3. – P. 807–821.
22. Wang, P. *Autocrine and exogenous transforming growth factor beta control cell cycle inhibition through pathways with different sensitivity* / P. Wang // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279. – P. 40237–40244.



РОЛЬ ЖЕЛЕЗА В ПАТОГЕНЕЗЕ И ПРОФИЛАКТИКЕ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Панин А.Л., Минаев А.В., Седых А.Д.

*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Железо занимает четвертое место по распространенности среди химических элементов на нашей планете [3]. Оно играет важнейшую роль в жизнедеятельности биоты и обмене веществ человеческого организма, обуславливая позитивные и негативные явления в нем. Так железо принимает участие в механизме кровообращения, влияет на общее состояние кожи, улучшает работу эндокринной системы, влияет на процесс роста детей и иммунитет. Недостаток этого минерала негативно сказывается на состоянии организма и может вызвать определенные заболевания. Повышенная концентрация железа является причиной развития дерматитов и аллергических заболеваний, которые изучаются на клинических кафедрах.

Однако помимо обменных процессов в организме человека железо так же влияет и на метаболизм бактерий, которые попадая в организм хозяина, вступают в конкурентные отношения за данный металл, чтобы выжить и успешно размножиться. Для этого они используют особые низкомолекулярные белки различной химической структуры – сидерофоры (siderophores, греч. sideros — железо и phoros — несущий).

Рассмотрим роль сидерофоров на примере рода *Yersinia* из семейства Enterobacteriaceae, у которых они получили специфическое название иерсиниабактин. Его участие в патогенезе иерсиниозов опосредовано через поглощение железа, связанного с молекулами транспортных белков в организме хозяина. Иерсинии весьма чувствительны к концентрации свободного железа в окружающей среде. Попадая в организм млекопитающего с избытком железа, они более активно размножаются и вызывают генерализованную инфекцию. Поэтому иерсиниабактин рассматривается как один из важных факторов вирулентности [1].

У здорового организма работают механизмы защиты железа от поглощения (хелатирования) бактериями, посредством связывания его с собственными белками. Данное явление называют «пищевым иммунитетом». При развитии инфекции патогенные микроорганизмы должны преодолеть создаваемый хозяином дефицит ионов железа путем индукции генов, отвечающих за его накопление.

Показано, что иерсинии с низкой патогенностью не способны синтезировать свой собственный сидерофор с высокой степенью родства к связан-



ному железу. В связи с этим перегрузка железом (например, при гемодиализе или многократных переливаниях крови) и лечение дефероксамином служат факторами риска развития сепсиса, вызванного патогенными разновидностями *Y. enterocolitica*, особенно сероваров O:3 и O:9 и в меньшей степени *Y. pseudotuberculosis*. У них также отсутствует рецептор Psn/FyuA для иерсиниабактина. Однако, они тем не менее обладают способностью к интернализации экзогенных сидерофоров, например: ферроксамина и феррихрома. Для поглощения экзогенных сидерофоров, иерсинии с низкой патогенностью используют рецепторы FoxA и FcuA. Сам по себе процесс интернализации (от лат. *interims* – внутренний) является важным явлением для понимания патогенеза тяжелых случаев инфекционной патологии, так как в процессе освоения внешних структур они становятся внутренними регуляторами патогенности бактерий [2].

Непатогенные иерсинии, в основном выделяемые из окружающей среды, продуцируют растворимую форму сидерофора, который, опять же, в условиях перегрузки организма железом способен наделять микроорганизмы потенциальными патогенными свойствами, что имеет практическое значение для инфекционной патологии.

В ходе экспериментов над мышами, одномоментное парентеральное введение железа и пероральное заражение *Y. kristensenii* давало развитие острой кишечной инфекции, что доказывает потенциальные патогенные свойства данной редко выделяемой иерсинии. У таких животных развивается инфекционный процесс, как правило, в течение 24 часов. Исследователи предположили, что данные бактерии вырабатывают неизвестный токсин, активируемый железом. Главный вывод из исследования свидетельствует о способности штаммов *Y. kristensenii* поражать мышей с помощью ранее не признаваемых механизмов.

Наряду с иерсиниями, у *Clostridium tetani*, возбудителя столбняка, высокие концентрации железа подавляют образование токсина, играющего роль в патогенезе данного смертельного заболевания. При этом железо способствует инвазивности клостридий. Объяснение данных механизмов еще не найдено [4].

Кроме этого, микобактерия туберкулеза (МБТ) является типичным сидерофильным микроорганизмом. Поэтому любые избыточно поступающие в ионы железа (свободное железо) в первую очередь утилизируются МБТ и способствуют их активной репликации. Однако, введение в организм соединений, снижающих концентрацию свободного железа, способно защищать от туберкулеза.

Вышеописанный обмен железа в макроорганизме, и участие в нем бактерий объясняет некоторые моменты в патогенезе инфекционных заболеваний и может в перспективе использоваться в их терапии. Недавние исследования показали, что сидерофоры слишком малы (гаптены), чтобы вызвать иммунный ответ в организме. Необходимо присоединять белки-носители к сидерофорам, делая их заметными для В-лимфоцитов и других иммунных клеток. Образован-



ные комплексы распознаются иммунной системой как «чужеродные агенты». В организме начинается выработка соответствующих антител, которые направленно действуют на бактерии путем нейтрализации их сидерофоров.

Данные принципы можно распространять на некоторых представителей семейства Enterobacteriaceae. Так группа исследователей из Мичиганского университета США разработала вакцину против сидерофоров бактерии *Escherichia coli*, вызывающей инфекцию мочевых путей. Другой коллектив, состоящий из ученых Массачусетского технологического института и Калифорнийского университета в Ирвайне (США), создал вакцину аналогичного типа против одного из штаммов сальмонелл (*Salmonella*), ответственных за тяжелые пищевые отравления. В обоих случаях вакцина не предотвращала болезнь полностью, но значительно снижала ее тяжесть и длительность течения. У мышей с инфекцией мочевых путей, количество бактерий в организме было в десять раз меньше, чем у контрольной группы. Воспаление у них проявлялось в меньшей степени. У лабораторных животных, в организм которых были введены сальмонеллы, количество бактерий по сравнению с тем, кто не получил вакцину, снизилось в 20 тысяч раз [5].

Таким образом, изучая влияние железа на патогенез инфекционной патологии ученые пришли к мысли практически использовать эти механизмы в защите от данных болезней. Создание препаратов для профилактики инфекционных заболеваний с использованием новых подходов находится на стадии научно-практических разработок. Тем не менее, исследователи считают перспективными для практики достигнутые результаты по использованию сидерофоров в получении вакцин. На основе достигнутых успехов разрабатываются аналогичные профилактические препараты для других возбудителей бактериальных инфекций. По планам исследователей, первые клинические испытания на людях могут состояться через пять лет [5].

Литература:

1. Панин А.Л., Богумильчик Е.А., Шаров А.Н. и др. Цианобактериальные маты как объекты мониторинга антарктических экосистем. Вестник СПбГУ. – 2013. – Сер. 3, вып. 2. – С. 3–11.
2. Иерсинии и иерсиниозы. Под редакцией проф. Г.Я. Ценовой. – СПб. – 2006. – С. 37-38.
3. Шерышева Н.Г., Осипов Г.А. Трансформация структуры микробного сообщества в восстановительном процессе в донных отложениях озера Серебрянка (Самарская Лука). Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2013. Т – 15, №3. – С. 489-496.
4. Demain A.L. [et al.] The role of reduced iron powder in the fermentative production of tetanus toxin // Applied Microbiology and Biotechnology



- 2006. – Vol. 73 (1). – P. 55-59. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16622677> (дата обращения: 22.02.2017).
5. Laura A. [et al.] Siderophore vaccine conjugates protect against uropathogenic *Escherichia coli* urinary tract infection // *The journal of urology Official Journal of the American Urological Association* – 2016. – Vol. 195. No. 4S. – P. 351. URL: <http://www.pnas.org/content/113/47/13468.abstract> (дата обращения: 22.02.2017).

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ЗА САПРОНОЗАМИ В АРКТИКЕ И АНТАРКТИКЕ

Панин А.Л.¹, Белов А.Б.¹, Сбойчаков В.Б.¹, Гончаров А.Е.^{2,3},
Тешебаев Ш.Б.⁴, Горбунов Г.А.⁴, Краева Л.А.¹, Власов Д.Ю.⁵

¹Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,

²Северо-Западный государственный медицинский университет
имени И.И. Мечникова,

³Институт экспериментальной медицины,

⁴Арктический и антарктический научно-исследовательский институт,

⁵Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург

Резюме. В период сезонных работ Российской антарктической экспедиции (РАЭ) впервые представлены результаты изучения микробиоты в объектах окружающей среды, в тушках погибших птиц и в погадках пернатых хищников с уточнением их видового состава, определением происхождения выделенных штаммов бактерий (местного или привнесенного происхождения) при помощи молекулярно-генетических методов исследований. В первую очередь проводился целенаправленный поиск психрофилов (иерсиний) и других представителей энтеробактерий, потенциально имеющих эпидемиологическое значение. Изучался механизм сохранения условно-патогенных бактерий при их симбиотическом взаимодействии в цианобактериальных матах (ЦБМ). Последние образования обычно растут и доминируют лишь в экстремальных условиях. Показана приуроченность матов на территориях орнитогенного и антропогенного загрязнения, где создаются реальные условия появления возбудителей природно-очаговых инфекций. Многообразие и уникальность проблем арктической медицины требуют комплексного подхода к их решению, отсюда делается вывод о необходимости создания санитарно-противоэпидемических



(профилактических) подразделений в специализированном научно-практическом центре.

Ключевые слова: молекулярно-генетические исследования бактерий прибрежной Антарктиды, цианобактериальные маты, возбудители сапронозных инфекций, иерсинии, псевдомонады, условно-патогенные бактерии, арктическая медицина.

The studies of the microbiota in the environment, in dead birds and their waste products with analyses of microbial structure, determination of the origin of the bacterial strains were conducted for the first time by molecular genetic research methods during the seasonal work of the Russian Antarctic Expedition (RAE). Main attention was given to search of psychrophilic microorganisms (Yersinia) and other members of the Enterobacteriaceae with potential epidemiological significance. The mechanism of preservation of pathogenic bacteria in cyanobacteriemic mats (CBM) was studied. It is shown that the distribution of CBM was connected with areas with ornithogenic and anthropogenic pollution where the favourable conditions for focal infections agents were created. In conclusion it is pointed out that diversity and uniqueness of the Arctic medicine problems require complex approach for the problems solution which can be accomplished by establishing a specialized scientific practical center.

Key words: molecular genetic studies of bacteria in coastal Antarctica, microbial mats, sapronotic infection, Yersinia, Pseudomonas, Arctic medicine.

Целью исследований, проводимых с 80-годов прошлого века в период сезонных работ РАЭ, являлось изучения микробиоты в объектах окружающей среды, в тушках погибших птиц, в погадках пернатых хищников с уточнение видового состава и определением происхождения выделенных штаммов бактерий. В решении вопроса происхождения выделенных бактерий (местного или привнесенного генезиса) незаменимы возможности молекулярно-генетических методов исследований. Учитывая местные условия, проводили поиск только психрофилов (иерсиний) и других энтеробактерий, потенциально имеющих эпидемиологическое значение. Изолированные холодные пустыни прибрежной Антарктиды и Арктики, тундры субарктики дают уникальные возможности для изучения микробиоты, в том числе возбудителей природно-очаговых сапронозных инфекционных болезней [1-6].

Отбор проб, их «полевой» этап анализа проводили по общепринятым методикам в бактериологической лаборатории научно-экспедиционного судна «Академик Фёдоров» в период сезонных работ 56 РАЭ и в стационарных условиях в Санкт-Петербурге. Из объектов внешней среды отбирали первичную почву (грунт), воду, тушки погибших пингвинов (взрослых и их птенцов), гуано птиц, погадки хищных пернатых (поморников), водные и сухопутные (на грун-



те) цианобактериальные маты (ЦБМ), а также близлежащую почву и воду, где они располагались.

Посевы осуществляли при +26 °С в течение 24-48 часов на питательной среде для выделения возбудителей кишечного иерсиниоза и псевдотуберкулеза (иерсиния-агар). Питательную среду для выделения энтеробактерий из исследуемого материала и их дифференциации по признаку ферментации лактозы (агар Эндо) инкубировали при +37 °С.

При обнаружении в пробах грамотрицательных палочек ставили тест на наличие у выделенных штаммов фермента оксидазы. Часть материала подвергалась «холодовому обогащению» в пептонно-калиевой среде при +4 °С с высевом на СБТС на 2-3 и 5-7 сутки. Перед посевом на среду Эндо и при исследовании загрязненных проб проводили щелочную обработку материала в течение 1-1,5 мин смесью 0,75% КОН и 0,5% NaCl [7].

В стационарных условиях культуры подвергали биохимическому исследованию тест-системой MIKRO-LA-TEST. На амплификаторе Терцик MC-2+ выполняли ПЦР-диагностику по технологии MALDI-TOF/MS с секвенированием амплифицированных фрагментов генов. Исследования проводили на приборе Bruker Daltonics. Результаты выдавались в виде масс-спектров и числовых значений. Вид бактерий автоматически определяли с помощью компьютерной программы на основании сверки полученных сигналов с имеющейся базой данных. Для обнаружения бактерий, не идентифицированных при помощи MALDI-TOF/MS проведено секвенирование амплифицированных фрагментов генов 16S rDNA с использованием специфических праймеров.

Всего в ходе микробиологических работ 56 РАЭ было изолировано 198 штаммов бактерий. При выделении психрофилов получено значительное количество бактерий рода *Pseudomonas*: флуоресцирующие виды – *P. putida*, *P. chlororaphis*, *P. oryzihabitans*, *P. fluorescens*, *P. luteola* и нефлуоресцирующие виды – без видовой дифференциации – *Pseudomonas* spp. Изолировано 8 штаммов иерсиний: 5 – *Y. enterocolitica*, 2 – *Y. kristensenii* и 1 – *Y. aldovae*. Данные бактерии являются классическими представителями сапронозов (хотя часть из них не имеют факторов патогенности, но могут их приобретать и становиться потенциальными источниками инфекции). Часто встречались виды *Burkholderia ceracia*, а также другие условно-патогенные бактерии: *Photobacterium* *asymbiotica*, *Eikenella corrodens*, *Kingella denitrificans*, *Achromobacter xylosoxidans*, *Obesum bacterium proteus*, *Stenotrophomonas maltophilia*. Реже изолировались: *Alcaligenes faecalis*, *Acinetobacter* (*A. lwoffii*, *A. haemolyticus*), *Brevundimonas vesicularis*, *Sutonella indologenes*, *Ochrobacterium iumanthropi*, *Comamonas terrigena*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacteriaceae*, *Citrobacter freundii*, *Oligella ureolytica*, *Tatumella saprochaeta*, *Serratia* (*S. marcescens*, *S. ficaria*, *S. plymuthica*, *S. liquefaciens*). После проведения первичной идентификации классическими методами остались неопознанными 30 штаммов, которые в дальнейшем изучены при помо-



щи технологии MALDI-TOF/MS: идентифицированы 17 штаммов *Serratia* двух видов: *S. liquefaciens* и *S. grimesii*; 3 штамма *Citrobacter freundii* и 10 штаммов *Lactobacillus* [8-10].

Последовательности генов 16S rDNA у двух штаммов оказались на 95-97% гомологичными с соответствующей последовательностью штамма *Psychrobacter faecalis* UCL-NF 1590 (GenBank № HQ698588.1). Полученные последовательности депонированы нами в GenBank под номерами KJ398192 и KJ398193. Вид *P. faecalis* является возбудителем госпитальной инфекции и вызывает пневмонию у больных с муковисцидозом. В то же время последовательность 16S-rDNA данного штамма, а также последовательности, выделенных изолятов тесно кластеризуются с соответствующей последовательностью DSM 14664 штамма *P. faecalis*, идентифицированного в пробах фекалий пингвинов и *P. faecalis* 34 из глубоководных морских отложений. Имеющиеся различия среди полученных образцов сиквенсов с доступными референтными последовательностями позволяют предположить, что выделенные культуры психробактеров являются эндемичными для Антарктики, что в доступной литературе не было отмечено. Причем один штамм получен из почвы колонии пингвинов Адели на острове Хасуэлл, в 2,5 км от научной станции «Мирный», второй – из материала от кальмаров, которыми питаются пингвины. Можно предположить наличие трофической цепочки в циркуляции данных условно-патогенных бактерий [11, 12]. Необходимо указать, что на острове Хасуэлл нами были обнаружены иерсинии [13].

Арктика и особенно Антарктика являются довольно изолированными от остального мира региональными местообитаниями микробиоты. Благодаря этому теплокровные виды животных, обитающих в данных условиях, не имеют контакт с имеющими медицинское значение сообществами микроорганизмов, не развиваются вместе с ними, что приводит к отсутствию действенной иммунной защитной системы от их воздействия. Доказательством таких случаев заражений являются зафиксированные немногочисленные эпизоды массовой гибели диких животных, причиной которых однозначно являются инфекционные заболевания [1, 14, 15].

Важным фактором, который может закрепить нахождение и распространение возбудителей природно-очаговых инфекций на территории Антарктики является характерная особенность местной фауны, позволяющей противостоять экстремальным природно-климатическим условиям среды – наличие большого количества видов птиц и водных млекопитающих, живущих весьма плотными популяциями (колониями). Это обстоятельство позволяет им выживать, но дополнительно повышает вероятность передачи возбудителей инфекционных заболеваний внутри данных сообществ. Важной особенностью, лимитирующей развитие микробиоты континента, является низкая влажность и температура. Они оказывают негативное воздействие на представителей ав-



тохтонной микробиоты и препятствуют распространению привнесенных в данном регионе микроорганизмов. Вместе с тем, в условиях холодных пустынь с постоянными сильнейшими стоковыми ветрами имеются механизмы защиты местной микробиоты. Таким весьма эффективным фактором являются ЦБМ, которые доминируют в так называемых оазисах. Эта территория свободная от снежно-ледового покрытия летом и занимающая всего 2-3% прибрежной Антарктиды [16, 17]. По нашим наблюдениям, маты наиболее многочисленны в районах гнездования птиц и вокруг поселений. Наряду с водными ЦБМ особый интерес представляют маты, локализующиеся на грунте, которые располагаются в низинах местности, по ходу пересыхающих ручьев и на дне мелких озер. Такое расположение на период короткого лета обеспечивает им достаточную влажность. Они хорошо закреплены на грунте, так как подстилающая неживая часть матов ими же и формируется. ЦБМ аккумулируют микробиоту и различные вещества из подстилающего грунта и воздуха. В рыхлых матах, в так называемом «войлоке», остается свободное пространство с водой, доступное для беспозвоночных – тихоходок, коловраток и нематод, в которых имеется своя микробиота [14]. По их физико-химической характеристике, наличию и количеству микроорганизмов в них обитающих нами предложено давать характеристику орнитогенному и антропогенному загрязнению территории научных станций и полевых баз РАЭ [18].

Глобальное изменение климата в сторону потепления с увеличением влажности и чрезмерное присутствие человека (особенно из стран с высокой инфекционной заболеваемостью – Китай, Индия и Латинской Америки), что может привести к риску переноса возбудителей инфекций и к угрозе их появления [19]. Так, за последние годы, количество людей Антарктике значительно увеличилось. По данным Международной ассоциации антарктических туристических операторов и Совета управляющих национальных антарктических программ за 2013-2014 гг. Антарктиду посетило 37 405 туристов и 4 462 полярника. Причем в основном они бывали на Антарктическом полуострове и на близлежащих островах, где природно-климатические условия более мягкие по сравнению с территорией остального материка. В данных регионах расположились десятки полярных объектов [20].

Необходимо учитывать развитие у зимовщиков синдрома полярного напряжения в условиях хронического действия экстремальных климато-географических факторов высоких широт, ускоряющего процесс истощения адаптивных резервов организма и приводящего к развитию каскада дезадаптивных расстройств. При этом, развивается полярная тканевая гипоксия, иммунная недостаточность, гиперкоагуляция крови, полиэндокринные расстройства, нарушение электромагнитного гомеостаза, регенераторно-пластическая недостаточность, метеопатия и психоэмоциональное напряжение. Эти факторы



создают возможность развития инфекционной патологии даже при контакте с условно-патогенными бактериями [19].

Наряду с антропогенным источником интродукции микроорганизмов необходимо учитывать возможности орнитогенного распространения. Это мигрирующие на длительные расстояния от Антарктики до других регионов гигантские буревестники, альбатросы, длиннохвостые крачки, полярные поморники и доминиканские чайки. Значение последних двух видов наиболее опасно, поскольку эти птицы тяготеют к обществу человека. Морские слоны и антарктические котики также относятся к мигрирующим видам животных, среди которых пока не зафиксированы случаи их массовой гибели. В Антарктике довольно сложно выстроить логическую эпидемиологическую цепочку и связать такие события воедино. Такие мероприятия не проводились вообще или осуществлялись в недостаточном объеме. Поэтому так важно использовать и развивать молекулярно-генетические исследования для выяснения источников природно-очаговых инфекций в полярных регионах [21-25].

Необходимо поддержать предложение специалистов, занимающихся полярной географией и медициной, о надобности создания учреждения с условным названием Центр военной медицины Арктической зоны на базе Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова [26]. Именно в Санкт-Петербурге расположен лидер российской полярной науки – Арктический и антарктический научно-исследовательский институт, с которым сотрудники ВМедА им. С.М. Кирова имеют давние тесные, деловые и научные связи. Данная статья является живым примером такой кооперации. Вопрос об организации данного Центра полярной медицины требует безотлагательного решения.

Таким образом, впервые проведены комплексные исследования выживания условно-патогенных, в том числе возбудителей сапронозных инфекций бактерий в экстремальных климатогеографических условиях прибрежной Антарктиды. Именно в данных регионах распространены ЦБМ, которые аккумулируют микробиоту и способствуют ее устойчивому существованию. Наличие колониальных мигрирующих птиц и млекопитающих, а также усиливающийся антропогенный фактор (особенно из стран с высоким уровнем инфекционных заболеваний) могут способствовать укоренению возбудителей природно-очаговой патологии. Использование молекулярно-генетических исследований наиболее актуально в экспедиционных условиях полярных широт и является важнейшим дополнением классических методов бактериологии.



Литература:

1. Кашнер Д. Жизнь микробов в экстремальных условиях // М.: Мир, 1982. 519 с.
2. Бухарин О.В., Гинзбург А.Л., Романова Ю.М., Эль-Регистан Г.И. Механизмы выживания бактерий // М.: Медицина, 2005. 367 с.
3. Дусмухамедов Н. С., Таипулатов Р. Ю., Бондаренко В. М., Переверзев Н. А. Идентификация и биологическая характеристика штаммов психрофильных бактерий, выделенных при диарее полярников и из воды озер Антарктиды // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1978. 11. С. 55-59.
4. Киселёва Б.С., Дусмухамедов Н.С., Голубева И.В. О выделении бактерий трибы *Klebsiellae* при диарее у полярников // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1978. 12. С. 49-52.
5. Белов А.Б. Вероятные перспективы развития экологической классификации инфекционных болезней человека по резервуарам возбудителей (взгляд эпидемиолога) // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2013. № 1. С. 6-14.
6. Сомов Г.П., Варвашиевич Т.Н., Тимченко Н.Ф. Психрофильность патогенных бактерий // Новосибирск: Наука, 1991. 204 с.
7. Эпидемиологический надзор и профилактика псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза: методические указания МУ 3.1.1.28-09. М., 2009. 61с.
8. Панин А.Л., Наумик А.В. Использование технологии MALDI-TOF/MS для идентификации микроорганизмов из внешней среды Антарктиды // Мат. международной конференции, посвященной 90-летию НИИЭМ им. Пастера «Молекулярная эпидемиология актуальных инфекций» СПб., 2013. С. 46.
9. Панин А.Л., Власов Д.Ю., Тешебаев Ш.Б. и др. Микробиологический мониторинг на антарктических станциях России: ретроспективный взгляд в будущее // Профилактическая и клиническая медицина. 2012. № 3 (44). С.70-75.
10. Панин А.Л., Власов Д.Ю., Тешебаев Ш.Б. и др. Микробиологический мониторинг на антарктических станциях России: ретроспективный взгляд в будущее // Профилактическая и клиническая медицина. 2012. № 3 (44). С.70-75.
11. Панин А.Л., Власов Д.Ю., Тешебаев Ш.Б. и др. Микробиологический мониторинг на антарктических станциях России: ретроспективный взгляд в будущее // Профилактическая и клиническая медицина. 2012. № 3 (44). С.70-75.



12. Панин А.Л., Белов А.Б., Гончаров А.Е. и др. Роль микробиологического мониторинга территории прибрежной Антарктиды в изучении глобального изменения климата Земли // Мониторинг состояния природной среды Антарктики и обеспечение деятельности национальных экспедиций: материалы I Междунар. науч. - практ. конф. (к. п. Нарочь, 26-29 мая 2014 г.). Минск: Экоперспектива, 2014. С. 209-215.
13. Тешебаев Ш.Б., Панин А.Л., Богумильчик Е.А. и др. Использование ПЦР для выявления иерсиний в районе размещения объекта Российской антарктической экспедиции // Генодиагностика инфекционных болезней: материалы VI Всероссийской науч. - практ. конф. с международ. участием. Т. II. М., 2007. С. 305-306.
14. Литвин В.Ю., Гинцбург А.Л., Пушкарева В.И. и др. Эпидемиологические аспекты экологии бактерий // М.: Фармус-Принт, 1997. 255 с.
15. Панин А.Л., Тешебаев Ш.Б., Добротина Е.Д. Эпидемиологическое значение мониторинга распространения микроорганизмов из Антарктиды // Мат. Всероссийской научной конференции «Теоретические основы эпидемиологии. Современные эпидемиологические и профилактические аспекты инфекционных и массовых неинфекционных заболеваний» СПб.: 2008. С. 233-235.
16. Заварзин Г.А. Лекции по природоведческой микробиологии / Г.А. Заварзин; Отв. ред. Н.Н. Колотилова; Ин-т микробиологии. – М.: Наука, 2004. С. 67-101
17. Панин А.Л., Богумильчик Е.А., Шаров А.Н. и др. Цианобактериальные маты как объекты мониторинга антарктических экосистем // Вестн. СПбГУ. 2013. Сер. 3, вып. 2. С. 3-11.
18. Панин А.Л., Краева Л.А., Ценева Г.Я. и др. Патент на изобретение «Способ оценки антропогенного и орнитогенного загрязнения окружающей среды Антарктиды по состоянию цианобактериальных матов (варианты)»: №254 от 13.12.2013. Рос. Федерация: МПК GO1N 33/24 – публ. 10.04.2015. Бюл. № 10.
19. Панин А.Л., Краева Л.А., Сбойчаков В.Б. и др. Микробиологический мониторинг иерсиний как основа санитарно-эпидемиологического надзора за иерсиниозами в организованных коллективах // Инфекция и иммунитет. 2013. № 3. С. 217-228.
20. Chowna S.L., Huiskesb Ad H.L., Niek J.M. et al. Continent-wide risk assessment for the establishment of nonindigenous species in Antarctica. PNAS. 2012. V.109. № 13. 4938–4943.
21. Горбунов Г.А., Панин А.Л., Тешебаев Ш.Б. Изучение механизмов взаимного влияния орнитофауны и антропогенного воздействия в районах размещения объектов Российской антарктической экспедиции в



- условиях прибрежной Антарктиды // Инфекции, обусловленные иерсиниями: материалы II Всероссийской науч.- практ. конф. с междунар. участием. СПб.: НИИЭМ им. Л. Пастера, 2006. С. 63-64.
22. Литвин В.Ю., Коренберг Э.И. Природная очаговость болезней: развитие концепции к исходу века // Паразитология. Т. 33, вып. 3, 1999. С. 179-191.
 23. Коренберг Э.И. Преадаптивное происхождение возбудителей природноочаговых зоонозов // Успехи современной биологии. 2005. Т. 125, № 2. С. 131-139.
 24. Литвин В.Ю., Сомов Г.П., Пушкарева В.И. Сапронозы и природная очаговость болезней // Актуальные проблемы природной очаговости болезней. Национальные приоритеты России. Омск: 2009. Спец. выпуск № 2. С.11-12.
 25. Сбойчаков В.Б., Панин А.Л., Белов А.Б. Природноочаговые инфекции шестого континента: ретроспективный взгляд в будущее // Журн. Национальные приоритеты России, 2014. № 3 (13) С. 29-33.
 26. Солдатов Е.А., Голота А.С., Корнилова А.А., и др. Медицинское обеспечение в Арктике: 2015 г. // Воен.-мед. журн. – 2016. –Т. 337, №5. – С.44-51.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 6,7-ДИАЗАСПИРО[3.4]ОКТАНДИОНА-5,8

Семенова Е.В., Семенов А.В., Инчина В.И., Репина Е.А.,
Уланова Т.В., Алимова Д.И., Ватина А.В., Есавкина А.В.
Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарёва,
г. Саранск

Резюме. Целью исследования был поиск структур соединений в ряду спиропроизводных пиразолидиндиона-3,5 с потенциальной ингибирующей активностью по отношению к *MirB*, синтез хит-соединений и исследование их антимикробной активности. В рамках предварительного отбора для оценки взаимодействия потенциальных соединений-лидеров с ферментом *MirB* и установления зависимости между их структурой и ингибирующей активностью нами было проведено исследование соответствующих лиганд-белковых комплексов методом молекулярного докинга с использованием программы *AutoDock Vina*. Первичный скрининг антимикробной активности синтезированных веществ осуществляли на стандартном штамме *E. coli* и



клиническом штамме *S. aureus*. Определение проводилось методом двукратных серийных разведений в мясопептонном бульоне. Установлено, что исследованные соединения не активны в отношении *E. coli*. В тоже время, некоторые спиросоединения проявляют активность против *S. aureus*. Наиболее выраженная активность обнаружена у соединения 6,7-бис(4-хлорфенил)-6,7-диаза Spiro[3.4]октандиона-5,8, его МИК составила 125 мкг/мл. Эти результаты хорошо согласовались с данными, полученными в результате молекулярного докинга. Введение хлора в пара-положение бензольного кольца изучаемых спиросоединений усиливало их антимикробную активность по отношению к *S. aureus*.

Ключевые слова: антимикробная активность, спиропроизводные пиразолидиндиона-3,5, молекулярный докинг, MurB.

Key words: antimicrobial activity, pyrazolidine-3,5-dione spiroderivatives, molecular docking, MurB.

Антибиотикорезистентность признана одним из важнейших вызовов мировому сообществу нового времени. Нерациональное применение антибиотиков и глобализация способствует молниеносному распространению полирезистентных и даже панрезистентных штаммов микроорганизмов. В связи с данным фактом в рамках борьбы с угрозой полной утраты эффективных антимикробных средств создание новых препаратов является актуальной задачей. Особый интерес представляет поиск новых противомикробных средств в ряду химических соединений, ранее не применявшихся в целях борьбы с микроорганизмами, что снижает риск быстрого формирования устойчивости.

В рамках указанной стратегии наше внимание привлекли производные пиразолонового ряда, которые по данным недавних исследований показали, выраженную антимикробную активность против грамположительных бактерий (*S. aureus*, *E. faecalis*, *S. pneumoniae*), в том числе против штаммов, резистентных к большинству современных антибиотиков [1,3].

В работе Kutterer и соавт. сообщалось о получении более 195 новых производных пиразолонового ряда (4-алкил- и 4,4-диалкилпроизводных 1,2-бис(4-хлорфенил)пиразолидиндиона-3,5) [1]. Данные соединения были изучены на предмет ингибирования биосинтеза клеточной стенки. Ряд из них продемонстрировали выраженную ингибирующую активность *in vitro* по отношению к ферменту MurB и низкую величину минимальной ингибирующей концентрации (МИК) против грамположительных бактерий. Одно из соединений проявляло антибактериальную активность как против грамположительных, так и против грамотрицательных бактерий.

Yang и соавт. также исследовали серию пиразолидиндионов-3,5 в качестве ингибиторов MurB [3]. Было выявлено, что все изученные соединения в той или иной степени ингибируют фермент MurB *E. coli* и *S. aureus*, и также



фермент MurA *E. Coli*. Кроме того, одно из соединений продемонстрировало умеренную ингибирующую активность по отношению к ферменту MurC *E. coli*. Таким образом у всех соединений были обнаружены антибактериальные свойства в отношении грамположительных бактерий, включая метициллин-резистентные штаммы *S. Aureus* (MRSA), ванкомицин- резистентные штаммы *Enterococcus faecalis* (VRE) и пенициллин- резистентные штаммы *Streptococcus pneumoniae*.

В указанных работах установлено, что основным механизмом противомикробного действия производных пиразолидиндиона-3,5 является ингибирование уридиндифосфат-N-ацетилпирувилглюкозамин редуктазы (MurB) – одного из ключевых ферментов, участвующих в синтезе клеточной стенки бактерий. Отсутствие подобного фермента в эукариотических клетках, в том числе в клетках человека, делает его привлекательной мишенью для поиска низкомолекулярных ингибиторов с потенциальной антибактериальной активностью.

Наличие потенциальной мишени с известной пространственной структурой позволяет применять методы автоматического докинга для поиска соединений с ингибирующей активностью. Виртуальный скрининг хит-соединений позволяет на досинтетическом этапе провести отбор тех производных, который имеют максимальный фармакологический потенциал.

Целью нашей работы был виртуальный поиск структур соединений в ряду спиропроизводных пиразолидиндиона-3,5 с потенциальной ингибирующей активностью по отношению к MurB, синтез хит-соединений и исследование их антимикробной активности.

Материал и методы. В рамках предварительного отбора хит-соединений для оценки взаимодействия потенциальных соединений с ферментом MurB и установления зависимости между их структурой и ингибирующей активностью нами было проведено исследование соответствующих лиганд-белковых комплексов методом молекулярного докинга с использованием программы AutoDock Vina [2]. Структура рецептора была взята из базы данных ProteinBank (PDB ID: 2MBR). Геометрия и заряды исследуемых лигандов были рассчитаны методом DFT/B3LYP/6-31G* с использованием программы GAMESS (US) 14.0. При проведении докинга был использован ламарковский генетический алгоритм.

Первичный скрининг антимикробной активности хит-соединений был проведен на стандартном штамме *Escherichia coli* ATCC 25922 и клиническом штамме *Staphylococcus aureus*, проявлявшем низкую чувствительность к пенициллинам и резистентном к макролидам. Определение проводилось методом двукратных серийных разведений в мясопептонном бульоне [4]. Микробная нагрузка составляла 10^5 м.т./мл. Посевы помещались в термостат на 24 часа



при 37°C, после чего учитывалось наличие или отсутствие роста в опытных и контрольных пробирках.

Результаты и их обсуждение. В результате проведенных расчетов были получены данные о сайтах связывания и свободных энергиях связывания лиганда с ферментом. Минимальные энергии связывания лиганд-белок для хит-соединений составили: для соединения 6 (6,7-дифенил-6,7-диазаспиро[3.4]октандион-5,8) $E_{CB} = -6.57$ ккал/моль; для соединения 7 (6,7-бис(2-хлорфенил)-6,7-диазаспиро[3.4]октандион-5,8) $E_{CB} = -6.54$, для соединения 8 (6,7-бис(4-хлорфенил)-6,7-диазаспиро[3.4]октандион-5,8) $E_{CB} = -6.88$, для соединения 9 (6,7-бис(3,4-дихлорфенил)-6,7-диазаспиро[3.4]октандион-5,8) $E_{CB} = -6.81$.

При анализе полученных значений свободных энергий установлено, что имеется значительное связывание рецептора со всеми моделируемыми лигандами, и сила связывания возрастает в ряду соединений (6) < (7) < (9) < (8), а также при введении в молекулу моделируемого соединения циклобутанового фрагмента.

Полученные в результате исследования сайты связывания характеризуются различной ориентацией лигандов и положением фармакофорных групп в лигандсвязывающем центре. Однако в большинстве случаев связывание наблюдается с однотипным набором примерно из десяти аминокислотных остатков. Однако для соединения 6 этот набор существенно отличался, а в случае лигандов (8) и (9), наряду с аминокислотными остатками, наблюдается взаимодействие атомов хлора бензольного кольца с изоаллоксазиновым фрагментом ФАД, отвечающим за окислительно-восстановительный процесс. Таким образом, в случае соединений (8) и (9) возможно непосредственное блокирование активного центра фермента Mur V.

По итогам скрининга был осуществлен синтез хит-соединений, их структура подтверждена методами ЯМР 1H , ^{13}C и ИК спектроскопии [5]. Однако в достаточном для первичного биологического скрининга количестве были получены лишь соединения (6), (7) и (8). Для них и был проведен первичный скрининг антимикробной активности по вышеуказанной методике. Результаты исследования приведены в таблице 1.

Таблица 1.

Минимальная ингибирующая концентрация (мкг/мл)

Микроорганизм	Соединение		
	6	7	8
Staphylococcus aureus	500	> 1000	125
Escherichia coli	> 1000	> 1000	> 1000



По данным первичного скрининга все изученные соединения проявляли слабую антимикробную активность в отношении *Escherichia coli*. Соединения (6) и (8) проявили также антимикробную активность в отношении *Staphylococcus aureus*, при этом п-хлорсодержащее производное (8) было в четыре раза активнее других исследуемых соединений.

Выводы. В результате проведенного исследования были найдены структуры соединений с потенциальной ингибирующей активностью по отношению к MurB, осуществлен синтез хит-соединений и изучена их антимикробная активность. Наиболее выраженная противомикробная активность была выявлена у соединения (8) (6,7-бис(4-хлорфенил)-6,7-дiazаспиро[3.4]октандион-5,8) в отношении *Staphylococcus aureus*, что хорошо согласуется с данными, полученными в результате молекулярного докинга.

Литература:

1. Kutterer, K. M. 4-Alkyl and 4,4'-dialkyl 1,2-bis(4-chlorophenyl) pyrazolidine-3,5-dione derivatives as new inhibitors of bacterial cell wall biosynthesis / K. M. Kutterer, J. M. Davis, G. Singh, Y. Yang, W. Hu, A. Severin, B. A. Rasmussen, G. Krishnamurthy, A. Failli, A. H. Katz // *Bioorg Med Chem Lett.* – 2005. – Vol. 15. – №10. – P. 118-134.
2. Trott, O. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading / O. Trott, A.J. Olson // *Journal of Computational Chemistry* – 2010. – Vol. 31. – №2. – P. 455-461.
3. Yang, Y. 3,5-Dioxopyrazolidines, novel inhibitors of UDP-N-acetylenolpyruvylglucosamin reductase (MurB) with activity against gram-positive bacteria / Y. Yang, A. Severin, R. Chopra, G. Krishnamurthy, G. Singh, W. Hu, D. Keeney, K. Svenson, P. J. Petersen, P. Labthavikul, D. M. Shlaes, B. A. Rasmussen, A. A. Failli, J. S. Shumsky, K. M. K. Kutterer, A. Gilbert, T. S. Mansour // *Antimicrobial Agents And Chemotherapy* – 2006. – Vol. 50. – №2. – P. 556-564.
4. Семенов, А. В. Синтез производных 6,7-дiazаспиро[3.4]-октандиона-5,8 – соединений с потенциальной антимикробной активностью / А.В. Семенов, А.А. Зубарев // *XXXVII Огаревские чтения: материалы науч. конф.: в 3 ч. Ч. 2: Естественные науки.* – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та – 2009. – С. 239 – 240.
5. *Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования* / Под ред. М.О. Бургера. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1982.-464с.



ДНК-ИММУНИЗАЦИЯ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ К БЕЛКУ NS1 ВИРУСА ЗИКА

Шевяков А.Г., Панферцев Е.А., Ветчинин С.С., Бикетов С.Ф.

*Государственный научный центр
прикладной микробиологии и биотехнологии,
г. Оболенск*

Иммунизация лабораторных животных рекомбинантной плазмидной ДНК, впервые описана в начале 1990-х [1]. Главным преимуществом ДНК иммунизации является то, что иммуноген вырабатывается *in vivo*, его синтез и презентация иммунокомпетентным клеткам происходит «на месте». Однако, низкая иммуногенность нативной (незащищенной) молекулы ДНК отсрочила широкое применение метода в клинике.

С развитием технологий ДНК иммунизация вновь стала привлекать к себе внимание. Разработаны различные методы доставки ДНК («генная пушка»), позволяющие значительно повысить эффективность иммунизации [2]. Первая коммерческая ДНК вакцина для животных зарегистрирована в 2005 году, в 2006 году зарегистрирована вакцина против вируса папилломы человека [3].

Новая область применения ДНК иммунизации – получение моноклональных антител к белковым антигенам. Традиционные подходы требуют для иммунизации не менее 2 мг белкового антигена высокой чистоты получение, которого может занять значительное время, особенно в случае использования технологий рекомбинантных ДНК и низкопродуктивных систем экспрессии. С другой стороны, ДНК иммунизация позволяет начать работу сразу после конструирования плазмиды, кодирующей целевой антиген, а для ее завершения необходимо лишь 10 мкг антигена на мыш. Установлено, что микро- и наночастицы в комплексе с ДНК обладают способностью усиливать ее пенетрацию и депонирование в клетках–мишенях, что приводит к повышению эффективности ДНК иммунизации.

Цель. Оценить эффективность ДНК иммунизации мышей при использовании нано частиц на основе золота и селена.

Материалы и методы. Рекомбинантная плазмидная ДНК, кодирующая белок NS1 вируса Зика, созданная на основе вектора для экспрессии в эукариотических клетках; рекомбинантный белок NS1 (Native Antigens); 50% раствор селенистой кислоты, аскорбиновая кислота, золотохлороводородная кислота, цитрат натрия (Sigma).

Наночастицы селена получали восстановлением аскорбиновой кислотой из раствора селенистой кислоты. Данная методика обеспечивает получение ча-



стиц размером около 100 нм. Наночастицы золота получали восстановлением из золотохлороводородной кислоты цитратом натрия по методике Туркевича [4]. Полученные частицы, согласно спектру поглощения, имели размер около 15 нанометров.

Конъюгат коллоидного селена и ДНК получали смешиванием раствора, содержащего 50 мкг высокоочищенной ДНК и 2 мл коллоида. Далее конъюгат центрифугировали и доводили объем из расчета 7 мкг ДНК на мышь. Конъюгат наночастиц золота с ДНК получали по аналогичной методике.

Мышей balb/c иммунизировали в/м инъекцией 50 мкл препарата в каждое бедро, предварительно отобрав образцы нативной сыворотки. Через две недели провели повторную иммунизацию, увеличив количество ДНК в два раза.

Титр сывороток определяли в ИФА с белком NS1.

Результаты и обсуждение. После двух иммунизаций (на двадцатый день от первой инъекции) у мышей отмечалось трехкратное повышение титра иммунной сыворотки (разведение 1:200) к рекомбинантному белку NS1 в сравнении с нативной сывороткой. Титры сывороток, полученных с использованием наночастиц селена, оказались в два раза выше по сравнению с титрами сывороток на основе наночастиц золота. Такое явление, вероятно, связано с большим размером частиц на основе селена и его антиоксидантными свойствами [5]. В литературе отмечается необходимость иммунизации высокими концентрациями свободной ДНК (от 100 мкг [2]), что связано с ее разрушением ДНКазами и низкой способностью проникать в клетки. Наночастицы селена, как средства доставки, могут обеспечивать защиту ДНК от деградации и облегчают ее проникновение в клетку. Данный метод позволяет начать процесс получения моноклональных антител к белкам, синтез и(или) очистка которых затруднена, сократить количество антигена для иммунизации животных.

Выводы. Впервые показана эффективность использования конъюгата наночастиц селена и ДНК для иммунизации с целью получения гибридом.

Литература:

1. Wolff, J., Malone, R., Williams, P., Chong, W., Acsadi, G., Jani, A., Felgner, P. Direct gene transfer into mouse muscle in vivo // *Science*. – 1990. – Vol. 247. Iss. 4949. P. 1465–1468.
2. Wang, Shixia, Zhang, Chunghua, Zhang, Lu, Li, Jun, Huang, Zuhu, Lu, S. The relative immunogenicity of DNA vaccines delivered by the intramuscular needle injection, electroporation and gene gun methods // *Vaccine*. – 2008. – Vol. 26. Iss. 17. P. 2100–2110.
3. Ferraro, B., Morrow, P., Hutnick, N. A., Shin, T. H., Lucke, C. E., Weiner, D. B. Clinical applications of DNA vaccines // *Clinical infectious diseases*



- : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. – 2011. – Vol. 53. Iss. 3. P. 296–302.
4. Kimling, J., Maier, M., Okenve, B., Kotaidis, V., Ballot, H., Plech, A. Turkevich method for gold nanoparticle synthesis revisited // *The journal of physical chemistry. B.* – 2006. – Vol. 110. Iss. 32. P. 15700–15707.
 5. Soumya, Rema Sreenivasan, Vineetha, Vadavanath Prabhakaran, Reshma, Premachandran Latha, Raghu, K. Gopalan. Preparation and characterization of selenium incorporated guar gum nanoparticle and its interaction with H9c2 cells // *PloS one.* – 2013. – Vol. 8. Iss. 9. P. e74411.

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И НАПРАВЛЕНИЯ РАЗВИТИЯ ПРОИЗВОДСТВА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД В РОССИИ

Шепелин А.П.

*Государственный научный центр
прикладной микробиологии и биотехнологии,
пос. Оболенск, Московская область*

В лабораторной медицине успешно внедряются национальные стандарты, регламентирующие требования к организации деятельности лабораторий и свойствам средств лабораторного анализа. Большая работа в этом направлении проводится научно-практическим обществом специалистов лабораторной медицины. Научные публикации, семинары, конференции и методические рекомендации по применению положений и требований национальных стандартов в практику клинико-диагностических лабораторий способствуют их успешному внедрению. Стандартизация лабораторных методов исследований обеспечивает наиболее успешное функционирование лабораторий, удовлетворение сотрудников условиями и результатами своего труда, адекватное взаимопонимание с клиническим персоналом и пациентами [1, 2].

Для диагностики инфекционных заболеваний важную роль занимают бактериологические методы исследований, включая выделение возбудителя с использованием дифференциально-диагностических питательных сред. Для качества результатов исследований необходимо применение стандартных питательных сред, реагентов и использование в работе стандартных методик в ходе взятия клинического материала, проведения и учета результатов исследования.

Питательные среды являются одним из важнейших компонентов лабораторных микробиологических исследований. Количество питательных сред (с учетом модификаций), по различным источникам, превышает 5 тыс. пропи-



сей. В бактериологической практике чаще всего используют сухие питательные среды, которые производятся в промышленных масштабах. Сухие среды могут храниться в течение длительного времени, удобны при транспортировке и имеют относительно стандартный состав [3,4].

Существенный вклад в нормативно-правовое регулирование производства и применения изделий медицинского назначения внес Федеральный закон от 01.11.2011 № 323 “Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации”. В п. 1 ст. 38 указанного закона дано определение медицинских изделий: “Медицинскими изделиями являются любые инструменты, аппараты, приборы, оборудование, материалы и прочие изделия, применяемые в медицинских целях... предназначенные производителем для профилактики, диагностики, мониторинга состояния организма человека, проведения медицинских исследований...”. В соответствии с этим определением питательные среды, используемые для диагностики инфекционных заболеваний, относятся к медицинским изделиям [5].

Важной составляющей санитарно-эпидемиологического надзора за инфекционными болезнями является система методов и средств их лабораторной диагностики. Быстрая и точная индикация и идентификация инфекционного патогена – определяющий фактор для своевременного проведения профилактических и противоэпидемических мероприятий с целью предупреждения распространения инфекции и назначения адекватного лечения, предупреждения экономического ущерба от временной потери трудоспособности заболевшими гражданами.

Среди методов микробиологической диагностики культуральный метод занимает особое место, являясь «золотым стандартом» лабораторной диагностики, поскольку именно обнаружение возбудителя заболевания при культивировании на питательных средах является убедительным доказательством инфекционной природы болезни [6-9].

Перечень питательных сред, необходимых в работе микробиологической лаборатории, определяется, в первую очередь, её спецификой, оснащением и финансовыми возможностями.

Основные отечественные производители питательных сред (ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора, НПО «Питательные среды» Махачкала, НИЦФ и др.) обеспечивают до 50% рынка в РФ. Остальное – импортные среды, среди которых большую часть составляют питательные среды для микроорганизмов со сложными питательными потребностями, готовые к применению в чашках Петри, транспортные среды, хромогенные, дифференциально-диагностические среды в картриджах для бактериологических анализаторов и др.

В связи с введением экономических санкций в отношении РФ со стороны США, стран ЕС, Японии и ряда других стран закупка продукции для бак-



териологических анализаторов, высокотехнологичных питательных сред будет ограничена.

Актуальной становится разработка состава и технологии производства импортзамещающих питательных сред.

ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора является одним из основных производителей питательных сред в России. Проведение научных исследований в области разработки питательных сред для широкого круга микроорганизмов, включая возбудителей особо опасных инфекций, туберкулёза, кишечных инфекций, гнойных бактериальных менингитов и др., началось в 80-е годы XX столетия. В настоящее время номенклатура выпускаемых препаратов в ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора составляет около 100 наименований. Большинство питательных сред прошли все этапы Государственных испытаний, зарегистрированы в качестве медицинских изделий Росздравнадзором и разрешены для применения в практическом здравоохранении. Питательные среды производства ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора широко используются бактериологическими лабораториями страны для выделения и дифференциации энтеробактерий, для диагностики особо опасных инфекций, дисбиотических состояний, дифтерии, гнойных бактериальных менингитов, при контроле микробной загрязнённости нестерильных лекарственных средств и др.

Сотрудники ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора имеют большой опыт работы по созданию прописей бактериологических питательных сред, разработке технологии производства питательных сред, организации производства, сертификации продукции. В ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора функционируют отдел биологического и технологического контроля, отдел обеспечения качества.

На завершающем этапе разработки находятся следующие отечественные питательные среды:

1. Агар Мюллера-Хинтона для определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам;
2. Агар Байард-Паркера – селективный агар для выделения и количественного учёта *Staphylococcus aureus* в пищевых продуктах и фармацевтическом материале;
3. Агар Фогеля-Джонсона для выявления коагулазо- и маннитположительных *S. aureus*;
4. Триптон-соевый агар для культивирования широкого круга микроорганизмов;
5. Цетримидный агар для выделения и дифференциации *Pseudomonas aeruginosa* из различного материала;
6. Триптон-желчный агар для обнаружения и подсчёта бактерий *E. coli* и других колиформных бактерий в воде с помощью метода мембранной фильтрации;



7. Агар Моссея для выделения *Bacillus cereus*;
8. Бульон Моссея для накопления энтеробактерий;
9. Бруцелла бульон для культивирования возбудителя бруцеллёза.

В настоящее время остро стоит вопрос об организации производства в России питательных сред для культивирования высоко требовательных микроорганизмов обладающих сложными пищевыми потребностями таких, как:

- 1) Агар с сердечно-мозговой вытяжкой (Brain-heart infusion agar);
- 2) Бульон с сердечно-мозговой вытяжкой (Brain-heart infusion broth);
- 3) Основа колумбийского агара для высоко требовательных микроорганизмов;
- 4) Двухфазная питательная среда для гемокультур;
- 5) Основа кровяного агара;
- 6) Желчно-эскулиновый агар для энтерококков;
- 7) Среды для стрептококков;
- 8) Бульон MRS;
- 9) Шедлер агар для анаэробов.

Несмотря на широкое внедрение в бактериологическую практику методов генодиагностики и геноиндикации, бактериологический метод остаётся «золотым стандартом» в диагностике большинства инфекций. Этот метод включает посев исследуемого материала на плотные питательные среды с последующим выделением и идентификацией чистой культуры возбудителя. Основной недостаток бактериологического метода – длительность исследования. Для быстрорастущих микроорганизмов результат может быть получен не ранее, чем через 2-3 суток после посева на питательную среду. Для ускоренной идентификации выделяемых культур в состав питательных сред для первичного посева или накопления чистой культуры обычно вводят дифференцирующие субстраты и соответствующие индикаторы. В классическом варианте это углеводы (лактоза, сорбит, сахароза и т. д.), многоатомные спирты, аминокислоты, мочевины или другие субстраты, при расщеплении которых ферментами микроорганизмов образуются вещества, изменяющие рН или окислительно-восстановительный потенциал питательной среды. В результате появления продуктов ферментации индикатор изменяет свой цвет и окрашивает, например, колонии микроорганизмов и питательную среду вокруг, помогая отличить их от бесцветных (неокрашенных) колоний микроорганизмов, не ферментирующих данный субстрат. Дифференциация при таком подходе осложняется тем, что сахаролитические и протеолитические ферменты микроорганизмов весьма многообразны и универсальны (часто встречаются у представителей разных видов). Это обуславливает относительно невысокие дифференцирующие свойства традиционных питательных сред. Для более чёткой дифференциации культур у них желательно определять родо- и/или видоспецифические ферменты.



В конце XX века в бактериологическую практику вошли дифференциальные среды нового поколения – хромогенные, принцип действия которых основан на выявлении высокоспецифичных ферментов у искомым микроорганизмов. К таким ферментам относятся, например, b-D-глюкуронидаза *Escherichia coli* или b-D-глюкозидаза энтерококков. Для обнаружения уникального фермента и, соответственно, идентификации микроорганизма, в состав питательной среды вводят хромогенный субстрат – вещество, при расщеплении которого данным ферментом образуются окрашенные и/или флюоресцирующие продукты. В результате рост микроорганизмов окрашивается в определённый цвет или приобретает способность к флюоресценции при ультрафиолетовом облучении. Поскольку хромогенный субстрат или их смесь вводятся в состав питательных сред (в том числе селективных) для первичного посева, то результат – выделение чистой культуры и её идентификация – может быть получен уже в течение первых суток исследования. Иногда при этом требуется проведение быстрых подтверждающих тестов (например, капельный тест на индол с реактивом Ковача для *E. coli*).

Хромогенные среды предназначены для быстрой (в течение 24 ч) индикации в исследуемом материале целого ряда микроорганизмов, имеющих важное значение для клинической и санитарной микробиологии: *E. coli* и другие колиформные бактерии, сальмонеллы и энтерогеморрагические эшерихии (*E. coli* O₁₅₇:H₇), энтерококки, *Staphylococcus aureus*, кластридии, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, другие проблемные грибы и бактерии.

Наиболее востребованы следующие хромогенные питательные среды:

- 1) Хромогенный агар для *E. coli* O₁₅₇;
- 2) Основа хромогенного агара МакКонки с сорбитом;
- 3) Хромогенный агар для энтерококков;
- 4) Основа хромогенного агара для листерий;
- 5) Хромогенный бульон для колиформных бактерий и *E. coli*;
- 6) Хромогенный агар для выделения метициллинустойчивых *S. aureus* (MRSA агар);
- 7) Хромогенный агар для грибов рода *Candida*;
- 8) Хромогенный агар для определения энтеробактерий, продуцирующих b-лактамазы расширенного спектра действия (БЛРС);
- 9) Хромогенный агар для выделения, подсчёта микроорганизмов в моче и прямой идентификации *E. coli*, *Enterococcus*, группы KESC (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*) и *Proteus* в один этап.

Эффективность микробиологической диагностики инфекционных заболеваний зависит не только от выбранного метода исследования и его характеристик, но и от качества проведения преаналитического этапа исследования, включающего взятие и транспортировку клинического материала в лабораторию для анализа. Даже незначительные ошибки на этом этапе исследований не-



избежно ведут к искажению окончательных результатов, не позволяя получить достоверные данные. По сведениям многих авторов на преаналитический этап приходится от 57 до 68% всех диагностических ошибок, которые ведут к необходимости проведения повторных исследований, но, что ещё более серьёзно, – к неправильной постановке диагноза. Для повышения качества лабораторных исследований, в первую очередь необходимо повысить качество сбора проб биологического материала и транспортирования его в лабораторию.

Одним из возможных путей предотвращения ошибок преаналитического этапа является использование надлежащих транспортных систем, содержащих транспортные питательные среды. Использование для транспортировки анализа (гной, кишечное содержимое и т. п.) обычных питательных сред является, зачастую, серьёзной ошибкой, поскольку в них идёт быстрое размножение менее требовательных сапрофитных микроорганизмов.

Промышленный выпуск транспортных сред осуществлён в Европе ещё в 1975 году. В России промышленное производство транспортных сред до сих пор отсутствует, несмотря на то, что научные разработки и промышленный выпуск сухих питательных сред начаты ещё в 1952 г. в Дагестанском научно-исследовательском институте по производству питательных сред, а с 80-х годов проводились и в ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии.

К числу основных транспортных сред относятся среда Кэри Блэйер, среда Эймса, среда Эймса с углём, среда Стюарта и специальные транспортные среды для отдельных видов микроорганизмов. Перечисленные среды не являются питательными, содержат фосфатный буферный раствор и тиогликолят натрия, предназначены для сбора и транспортировки только бактериологических проб. Транспортная среда, с одной стороны, обеспечивает сохранение жизнеспособности микроорганизмов, и, в то же время, обязана ограничивать их размножение. Среда Стюарта предназначена для сохранения и транспортировки широкого спектра патогенных микроорганизмов. Наиболее требовательные микроорганизмы сохраняются в данной среде около суток, прочие – до нескольких дней. Транспортная среда Кэри Блэйер представляет собой модификацию транспортной среды Стюарта, предназначенную специально для фекальных и ректальных образцов. Данная среда является стандартной для транспортировки анаэробов.

Транспортная среда Эймса представляет собой очередную модификацию транспортной среды Стюарта, в которой глицерофосфат заменён неорганическим фосфатом, поскольку глицерофосфат является метаболитом некоторых энтеробактерий (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, etc.) и может поддерживать рост некоторых грамотрицательных микроорганизмов. Метиленовый синий заменён на активированный уголь. В транспортную среду добавлены соли кальция, магния для поддержания проницаемости бактериальных клеток. Эта транспортная среда способна более 3 дней поддерживать жизнеспособными такие микроорганизмы, как *Neisseria* spp., *Haemophilus* spp., *Corynebacterium* spp.,



Streptococcus spp., Enterobacteriaceae и др., однако наилучшие результаты даёт культивирование в течение первых 24 часов.

Необходимы специальные транспортные среды для отдельных видов микроорганизмов, таких как вибрионы, кампилобактерии и др., для сохранения и транспортировки которых не подходит ни одна из перечисленных сред.

Заключение. В связи с введением экономических санкций в отношении России со стороны США, стран ЕС, Японии, ряда других стран импортозамещение становится одной из стратегических задач российской экономики. Разработка состава и технологии производства отечественных импортзамещающих питательных сред призвана удовлетворить потребности лабораторной службы России в расходных материалах, обеспечить адекватный ответ на возникающие вызовы и новые биологические угрозы и поддержание биобезопасности государства на должном уровне.

Представленные данные по обоснованию номенклатуры питательных сред и транспортных систем позволит в полном объёме удовлетворить потребности клинической и санитарной микробиологии в питательных средах отечественного производства и отказаться от импортных поставок, не снижая при этом качества микробиологических исследований.

Литература:

1. *Меньшиков В.В. Стандартизация в клинической лабораторной медицине. Организационные и метрологические аспекты // М., 2005-251с.*
2. *Меньшиков В.В. Критерии оценки методик и результатов клинических лабораторных исследований. Справочное пособие // М., Лабора, 2011-327с.*
3. *Шепелин А.П., Дятлов И.А. Роль и место микробиологии в решении вопросов модернизации здравоохранения. Аналитический обзор. Протвино: А-Принт ЗАО.2012.112с.*
4. *Артюхин В.И., Шепелин А.П., Киселева Н.В. Белковые гидролизаты в производстве питательных сред. Обзорная информация. М., ВНИИ СЭНТИ Минмедпрома СССР,1990, вып. 9-10.- С.52.*
5. *Крылова Т.Г. Комарова Т.Я. Новые аспекты государственной регистрации медицинских изделий // Вестник Росздравнадзора. 2012. № 5. С. 4-9.*
6. *Домотенко Л. В., Бифидум-среда для выделения и культивирования бифидобактерий. / Домотенко Л. В., Шепелин А. П. // Инфекции и иммунитет. - 2014. – т. 4, № 3. - С. 279-283.*



7. Домотенко Л. В., Сравнительные испытания лактобакагара и MRS / Домотенко Л. В., Шепелин А. П., Детушев К. В // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». - 2014. - № 4. - С. 5-10.
8. Миронов А. Ю., Харсеева Г. Г., Ключкина Т. В. Основы клинической микробиологии и иммунологии. Учебное пособие / под ред. проф. А. Ю. Миронова. – Ростов-на-Дону: ГОУ ВПО РостГМУ, 2011. – 248 с.
9. Харсеева Г. Г., Дифтерия: микробиологические и иммунологические аспекты / Алутина Э. Л., Гасретова Т. Д., Дятлов И. А., Лабушкина А. В., Миронов А. Ю., Ненадская С. А., Симованьян Э. М., Сылка О. И., Тюкавкина С. Ю., Харсеева Г. Г., Шепелин А. П. // М.: Практическая медицина, 2014. - 241 с.

БИОПРЕПАРАТЫ КАК СТИМУЛЯТОРЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ИММУНИТЕТА

Юрина Н.А., Юрин Д.А.

Северо-Кавказский научно-исследовательский
институт животноводства,
г. Краснодар

Резюме. В статье приводятся результаты исследований по определению зоотехнической целесообразности и экономической эффективности раннего использования пробиотических кормовых добавок «Моноспорин», «Пролам» и «Бацелл» в рационах молодняка птицы. В существующих современных технологических схемах производства птицеводческой продукции фактически отсутствует этап передачи материнского иммунитета через микроорганизмы. Подселение полезных микроорганизмов в желудочно-кишечный тракт птицы на самой ранней стадии жизни и в последующие периоды роста обеспечивает неспецифический иммунитет, оказывает положительное влияние на сохранность и качество будущей курочки-несушки, позволяет вырастить ремонтный и откармливаемый молодняк без применения антибиотиков с более высокой живой массой и снизить себестоимость единицы продукции. Проведенные испытания подтверждают экономическую целесообразность комплексного применения пробиотических кормовых добавок «Моноспорин», «Пролам» и «Бацелл» в период выращивания ремонтного и откармливаемого молодняка птицы, начиная с самой ранней стадии еще в инкубатории, и продолжая вводить «Бацелл» в корма кур-несушек в продуктивный период.



Ключевые слова: пробиотики, биопрепараты, иммунитет, продуктивность, бройлеры.

Key words: probiotics, biological preparations, immunity, productivity, broilers.

Цель исследований. Основной целью научно-хозяйственных опытов являлось определение зоотехнической целесообразности и экономической эффективности раннего использования пробиотических кормовых добавок «Моноспорин», «Пролам» и «Бацелл» ООО «БиоТехАгро» (г. Тимашевск) в рационах ремонтного молодняка кур-несушек и гусят, выращиваемых на мясо. Необходимо было получить научно-обоснованные данные по применению пробиотиков с первых часов жизни молодняка в условиях инкубатория для рекомендаций к широкому использованию этого метода в птицеводстве. Ранее было установлено, что скармливание этих препаратов молодняку сельскохозяйственной птицы, свиней и КРС увеличивает прирост их живой массы до 13%, сохранность поголовья – до 8%, снижает затраты кормов на единицу продукции до 31,2% [1, 2, 5, 6].

В процессе выращивания цыплят в промышленных условиях всегда сохраняется риск вспышки в стаде какой-либо болезни. На предприятиях с высокой концентрацией птицы желудочно-кишечные заболевания занимают второе место после вирусных инфекций и являются основной причиной гибели молодняка [10].

Пробиотики применяются для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний инфекционной природы молодняка сельскохозяйственных животных, а также для стимуляции неспецифического иммунитета; профилактики и лечения расстройств пищеварительного тракта алиментарной этиологии [1].

Проблема создания благоприятного микробного фона при выращивании сельскохозяйственной птицы существует уже очень давно. Это особенно актуально в условиях ведения современного интенсивного птицеводства [3, 7, 8].

В последние годы наукой и практикой доказано, что пробиотические препараты позволяют улучшать процессы пищеварения, обмен веществ, повысить продуктивность животных и экономические результаты производства [9]. Многие из предлагаемых в настоящее время на ветеринарном рынке препаратов рекламируют как пробиотики. Они различны по составу, качеству, фармакологической направленности действия, показаниям к применению и недостаточно изучены. Пробиотики - препараты, содержащие живые микроорганизмы, относящиеся к нормальной, физиологически и эволюционно обоснованной флоре кишечного тракта и являются кормовыми добавками. Они положительно влияют на организм хозяина.



В существующих современных технологических схемах производства птицеводческой продукции фактически отсутствует этап передачи материнского иммунитета через микроорганизмы. Поэтому у цыплят низкая сопротивляемость, высок процент падежа и выбраковки в первые дни жизни, в том числе по причине незаразных заболеваний желудочно-кишечного тракта, а также высок риск возникновения инфекционных заболеваний. У инкубационных цыплят микробный статус формируется на 10-14 сутки жизни, у цыплят, растущих с наседкой на 1-3 сутки жизни [4].

Для того чтобы обеспечить неспецифический иммунитет, повысить сохранность и качество будущей курочки-несушки, вырастить ремонтный и откармливаемый молодняк без применения антибиотиков с более высокой живой массой и снизить себестоимость единицы продукции необходимо подселить молодняку в желудочно-кишечный тракт полезные микроорганизмы с первых часов жизни в условиях инкубатория.

Для решения поставленных задач была проведена серия исследований.

Материал и методы. На птицефабрике ООО «Алекса» Ейского района Краснодарского края поставлен первый научно-производственный опыт по использованию в кормлении цыплят яичных кроссов пробиотических препаратов «Бацелл» и «Пролам». Для этого были отобраны 6 групп суточных цыплят кросса «Shaver» по 50 голов в каждой. Условия содержания, кормления и поения для цыплят всех групп были одинаковыми, за исключением ввода пробиотических препаратов. Первая группа получала основной рацион (ОР). Вторая группа получала ОР + «Бацелл» 0,2% по массе + «Пролам» 7/7 дней до 28-дневного возраста (обработанные аэрозольно «Проламом» в инкубаторе и прокормленные пшеном, замоченным в «Проламе» до отправки на птицефабрику). Третья группа получала ОР + «Бацелл» + «Пролам» 7/7 дней до 91-дневного возраста (обработанные Проламом в инкубаторе и прокормленные пшеном, замоченным в Проламе). Четвертая группа цыплят получала ОР + «Бацелл» + «Пролам» 7/7 дней до 28-дневного возраста. Пятая группа - ОР + «Бацелл» + «Пролам» 7/7 дней до 91-дневного возраста. Шестая группа - ОР + «Бацелл». Пробиотик «Бацелл» скармливался ежедневно в течение всего опыта в количестве 0,2% по массе корма.

Второй – производственный опыт проводили на ремонтных цыплятах родительского стада Хайсекс Браун. Для этого были выделены 2 корпуса – опытный и контрольный. Птицу до 91-дневного возраста содержали в типовых клеточных батареях совместно курочек с петушками. Условия содержания: световой режим, влажность, плотность посадки соответствовали рекомендациям ВНИТИП (2005) и не отличались между корпусами.



Первая группа была контрольная, получала основной рацион, а цыплят второй опытной группы обработали пробиотиком Пролам в выводном шкафу инкубатора: за час до выборки выведенного молодняка птицы в выводном шкафу инкубатора производилась аэрозольная обработка птицы пробиотической кормовой добавкой Пролам. Экспозиция длилась в течение 5 минут, на этот период вентиляция отключалась. Расход препарата - 15 мл на 1м³ объема шкафа. После пятиминутной обработки работа инкубатора возобновлялась в прежнем режиме. После выборки птицы из выводного шкафа и проведения зооветеринарных мероприятий (прививки, сортировка и т.д.), когда птица была размещена в ящики для транспортировки, проводился следующий этап подселения микроорганизмов пробиотической добавки Пролам в пищеварительные органы. Для этого цыплят сверху равномерно посыпали пшеном, предварительно замоченным на 1,5-2 часа в добавке. Расход Пролама - 1 л на 1 кг пшена. Расход пшена - 100-150 г на 1000 голов цыплят.

Далее, при посадке на корпус, опытные цыплята получали с 1-го дня 0,2% Бацелла по массе основного рациона весь период выращивания до 91-дневного возраста, Пролам – с 1 дня 0,1 мл на голову 7 через 7 дней.

В корпусах были выделены клетки с птицей по 100 голов в каждой для учета живой массы и затрат кормов. В научно-хозяйственных опытах учитывались следующие параметры:

Молодняк выращивали до 91-дневного возраста. Затем был проведен контрольный убой молодок для определения их полового развития и изучения состояния внутренних органов.

Целью третьего эксперимента, проведенного на цыплятах-бройлерах, являлось изучение эффективности использования в их комбикормах препарата «Пролам».

Для ее выполнения был проведен научно-хозяйственный опыт в условиях птицефабрики «Ленинградская» Ленинградского района Краснодарского края, согласно рекомендациям по методике проведения научных и производственных исследований по кормлению сельскохозяйственной птицы (Сергиев Посад, 2000).

Цыплят содержали в клеточных батареях КБУ-3 со свободным доступом к воде и кормосмеси. Микроклимат помещения: световой и температурный режимы, влажность воздуха, а также плотность посадки в клетках, фронт кормления и поения соответствовали рекомендуемым параметрам. Для опыта использовали гибридную птицу мясного кросса «Кобб-500».

Группы были сформированы по принципу аналогов по 51 голове в каждой. Птица первой - контрольной группы получала полнорационный комбикорм. Цыплятам второй группы скармливали с комбикормом пробиотик «Пролам» фирмы ООО «БиоТехАгро», г. Тимашевск Краснодарского края: с 1 по 14 день и с 22 по 36 день – 0,1 мл на 1 голову в сутки.



Результаты и обсуждение. В результате первого эксперимента установлена положительная роль пробиотических кормовых добавок, как стимуляторов роста (табл. 1).

Таблица 1.

Живая масса и сохранность цыплят за период 1-56 дней

Показатели	Группа					
	1	2	3	4	5	6
Живая масса в суточном возрасте, г	37	37	37	37	37	37
в 91 дней, г	1099,4± 17,7	1220,8± 12,5***	1229,6± 15,3***	1208,9± 13,1***	1214,7± 13,5***	1194,9± 14,0***
Среднесуточный прирост, г	11,7	13,0	13,1	12,9	12,9	12,7
В % к контролю	100	111,1	112	110,3	110,3	108,5
Заграты корма на 1 кг прироста живой массы, кг	3,72	3,33	3,31	3,37	3,35	3,41
В % к контролю	100	89,5	89,0	90,6	90,1	91,7
Сохранность, %	96	100	100	98	100	98

* - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; *** - $P < 0,001$

По результатам перевески цыплят в 91-дневном возрасте была рассчитана однородность поголовья. Установлено, что однородность стада молодок контрольной группы соответствовала 88%, во второй и третьей группах – 90%, в четвертой, пятой и шестой группах – 89%, что свидетельствует о хорошей выравненности поголовья ремонтных курочек.

По результатам контрольного убоя молодок в 91-дневном возрасте установлено, что убойный выход тушки у цыплят опытных групп, при использовании пробиотиков, увеличивался на 3-6%. На развитие мышц и их отношение к массе потрошеной тушки применение пробиотиков не оказало особого влияния, однако произошло снижение массы внутреннего жира в тушках опытных цыплят до 50%.

При расчете экономической эффективности использования пробиотиков в рационах ремонтных курочек установлено, что себестоимость 1 кг живой массы молодок снижается в опытных группах на 8-10%, при этом дополнительно получено прибыли на 1 голову во второй опытной группе – 15,1 руб., в третьей – 15,3 руб., в четвертой – 13,5 руб., в пятой – 13,3 руб., в шестой – 12,6 руб. А рентабельность выращивания молодняка промышленного стада кур-несушек



составила в первой группе 6,6%, во второй – 17,5%, в третьей – 17,5%, в четвертой – 16,4%, в пятой – 16,1%, в шестой – 15,8%.

В первом научно-хозяйственном опыте было проанализировано, насколько повлияло скармливание пробиотиков «Пролам» и «Бацелл» на яичную продуктивность кур-несушек с 22 недели (при выходе на 50%-ный уровень яйцекладки) до 53 недельного возраста птицы.

Снесено яиц на среднюю курицу-несушку в первой группе 190,7 штук, во второй – 199,4 штук, в третьей – 201,2 штук, в четвертой – 195,1 штук, в пятой – 194,2 штук, в шестой – 192,0 штук.

Затраты кормов на 1 кг яйцемассы составили в первой группе 2,30 кг, во второй – 2,17 кг, в третьей – 2,16 кг, в четвертой – 2,22 кг, в пятой – 2,22 кг, в шестой – 99,1 кг.

При скармливании пробиотиков себестоимость 1 десятка яиц во второй группе уменьшилась на 4,8%, в третьей – на 5,6%, в четвертой и пятой – на 2,2%, в шестой – на 0,5%. При этом уровень рентабельности производства куриных яиц повысился, соответственно по группам: на 4,4, 5,2, 1,7, 1,8 и 0,2%. Дополнительной прибыли от одной курицы-несушки получено во второй группе – 11,3 руб., в третьей – 13,3 руб., в четвертой – 4,4 руб., в пятой – 4,7 руб., в шестой – 0,76 руб.

За счет увеличения сохранности поголовья и валового прироста живой массы курочек опытной группы, себестоимость 1 кг прироста живой массы во второй группе снизилась на 3,7%, по сравнению с контролем, прибыль увеличилась на 6,9% при повышении затрат на производство посредством добавления пробиотиков Пролам и Бацелл всего на 0,9%. Дополнительной прибыли получено на 1 выращенную голову – 10,2 руб.

За счет повышения сохранности поголовья и валового прироста живой массы петушков, себестоимость 1 кг прироста снизилась на 5,4%, а прибыль от реализации увеличилась на 8,9%. Дополнительной прибыли получено 18,2 руб. на 1 выращенную голову.

Добавление пробиотика способствовало улучшению конверсии кормов в продукцию тела бройлеров на 9,1%.

По результатам проведенных ветспециалистом хозяйства патологоанатомических исследований падеж птицы не был связан с кормовыми факторами. Во второй группе сохранность была выше на 2%, относительно контроля.

Убойный выход тушек и масса мышц во всех группах были примерно одинаковыми.

В опытной группе несколько снизилась масса сердца цыплят-бройлеров. По массе печени разница была незначительной. По цвету и консистенции этого органа особой разницы между группами не было. Признаки жировой дистрофии и других патологий отсутствовали в обеих группах.



При использовании пробиотика «Пролам» наблюдалась тенденция к увеличению массы кишечника, а при применении одного пробиотика – к его снижению.

В опытной группе наблюдалось увеличение длины слепых отростков на 14,5%, при этом во всех группах они были хорошо развитыми и имели насыщенный темный цвет.

Выводы. Подселение полезных микроорганизмов в ЖКТ птицы на самой ранней стадии жизни и в последующие периоды роста обеспечивает неспецифический иммунитет, оказывает положительное влияние на сохранность и качество будущей курочки-несушки, позволяет вырастить ремонтный и откармливаемый молодняк без применения антибиотиков с более высокой живой массой и снизить себестоимость единицы продукции. Проведенные испытания подтверждают экономическую целесообразность комплексного применения пробиотических кормовых добавок «Моноспорин», «Пролам» и «Бацелл» в период выращивания ремонтного и откармливаемого молодняка птицы, начиная с самой ранней стадии еще в инкубатории, и продолжая вводить «Бацелл» в корма кур-несушек в продуктивный период.

Литература:

1. Власов, А.Б. Использование пробиотиков при выращивании гусят на мясо / А.Б. Власов, Н.А. Пышманцева, Д.В. Осепчук // Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства. - 2012. - Т. 3. - № 1-1. - С. 66-68.
2. Казанцев А.А. Эффективность выращивания молодняка КРС на рационах кормления с включением пробиотика Бацелл / А.А. Казанцев, Н.А. Пышманцева // Труды Кубанского государственного аграрного университета. - 2012. - Т. 1. - № 33. - С. 155-158.
3. Кононенко С.И. Способ повышения продуктивного действия рациона // Зоотехния. - 2008. - № 4. - С. 14-15.
4. Мартынеско, Е.А. Пробиотик в рационе цыплят-бройлеров / Е.А. Мартынеско, С.И. Кононенко, Н.А. Пышманцева // Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства. - 2012. - Т. 3. - № 1-1. - С. 115-117.
5. Пышманцева Н.А. Влияние пробиотика «Бацелл» в комбикормах молодняка кур-несушек / Н.А. Пышманцева, И.Р. Тлецерук, А.Е. Чиков, С.И. Кононенко, Д.В. Осепчук, М.С. Галичева, Н.В. Ляшенко // Вестник Майкопского государственного технологического университета. - 2011. - № 4. - С. 58-63.



6. Пышманцева Н.А. Пробиотик Бацелл в рационах свиней / Н.А. Пышманцева, Н.А. Омельченко // *Животноводство России*. – Специальный выпуск по свиноводству. – 2011. – С. 47-48.
7. Пышманцева Н. Рентабельность птицеводства повышают пробиотики / Н. Пышманцева, Н. Ковехова, В. Савосько // *Животноводство России*. – Специальный выпуск по птицеводству. – 2011. – С. 34-35.
8. Скворцова Л.Н., Осепчук Д.В., Пышманцева Н.А. Эффективность использования пробиотиков отечественного производства при выращивании цыплят-бройлеров // *Ветеринария Кубани*. - 2008. - № 5. - С. 18-19.
9. Юрин, Д.А. Оптимизация расчета рационов для сельскохозяйственных животных / Д.А. Юрин, Н.А. Юрина // *Сборник научных трудов Северо-Кавказского научно-исследовательского института животноводства*. - 2016. - Т. 1. - № 5. - С. 148-152.
10. Юрина, Н.А. Использование кормовых добавок «Споротермин» и «Ковелос» в рационах молодняка сельскохозяйственных животных / Н.А. Юрина, З.В. Псхацьева, С.И. Кононенко, Н.Н. Есауленко, В.В. Ерохин, В.А. Бараников // *В сборнике: Современные технологии сельскохозяйственного производства и приоритетные направления развития аграрной науки Материалы международной научно-практической конференции: в 4-х томах*. - 2014. - С. 263-264.

ВСЕРОССИЙСКАЯ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

**ИННОВАЦИИ В МЕДИЦИНСКОЙ,
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ,
ВЕТЕРИНАРНОЙ И ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ
МИКРОБИОЛОГИИ**

ТЕЗИСЫ



МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ СТАФИЛОКОККОВ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВЫДЕЛЕННЫХ КУЛЬТУР

Алхасова Г.К.¹, Омарова С.М.², Исаева Р.И.²

¹Сургутский государственный университет,

г. Сургут,

²Дагестанский государственный медицинский университет,

г. Махачкала

Современная медицина успешно использует научные достижения, активно применяя новые технологии для диагностики и лечения заболеваний. В последнее годы к традиционным классическим микробиологическим методам лабораторной диагностики инфекционных заболеваний добавились новые, основанные на использовании молекулярно-генетических технологий.

Цель. В этих условиях совершенствование методов эпидемиологического и микробиологического мониторингов, направленных на выявление эпидемически значимых штаммов, приобретает все более актуальное значение.

Материалы и методы. Одним из удобных и быстрых методов мониторинга стафилококковой инфекции, еще не получивший масштабного распространения, является применение полимеразной цепной реакции (ПЦР).

ДНК возбудителя выявляли при помощи полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией основанной на амплификации участка ДНК микроорганизма при помощи специфичных к данному участку ДНК праймеров. Реакция амплификации осуществлялась с использованием коммерческой тест-системы «Амплисенс MRSA-скрин-титр-FL» на флуоресцентном детектирующем термоциклере ДТ prime в режиме реального времени.

Результаты и обсуждение. Использование молекулярно-генетической детекции ДНК возбудителя, дополненное определением маркеров его патогенности при разных вариантах развития оппортунистической инфекции поможет установить этиологическую значимость микроорганизма. Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП) продолжают оставаться актуальной проблемой здравоохранения, определяя высокие уровни заболеваемости среди родильниц. Но сейчас встречаются штаммы, устойчивые и к метициллину, в связи, с чем штаммы золотистого стафилококка делят на метициллин-чувствительные (MSSA) и метициллин-устойчивые штаммы золотистого стафилококка (MRSA) Наибольшее клиническое значение при этом имеют коагулазоположительные (КП), и, прежде всего, *S. aureus*, и коагулазоотрицательные (КО) ста-



филококки, из которых основное место в этиологии инфекционной патологии родильниц отводится *S. epidermidis*, выделение и идентификация которых из патологического материала всегда свидетельствует об их этиологической значимости.

Из клинического материала от родильниц с инфекционными осложнениями всего было изолировано и идентифицировано 385 штаммов стафилококков. Доля *S. aureus* составила 10,9%. Остальные, в основном, были представлены видами, которые традиционно не считаются патогенами и практически не учитываются *S. cohnii*, *S. xylosis*.

Все выделенные культуры стафилококков исходя из их способности коагулировать плазму, подразделяли на КП и КО стафилококки. 61,3% изолированных культур относились к некоагулирующим плазму видам. Из КП видов выделяли *S. aureus*, которые обладали, наряду с плазмокоагулазой, и другими факторами патогенности. Так лецитиназу продуцировали 36,7% штаммов, гемолизины – 19,1%, ДНК-азу – 33,5%. Как правило, для *S. aureus* характерно сочетание нескольких факторов патогенности. Что касается КО видов стафилококков, 12,9% и 9,1% соответственно, обладали лецитиназной и ДНК-азной активностью, гемолитической активностью обладали 18,6% культур.

От 102 родильниц с инфекционной патологией со стороны мочевыделительной системы было выделено и идентифицировано 198 штамма стафилококков. Наиболее часто они высевались из проб мочи (10^5 и выше КОЕ/мл). Доля *S. aureus* составляла 41,3%, что значительно превышало ($p < 0,05$) аналогичный показатель выделения из мазков. КП стафилококки выделяли в 56,3%, среди них продуцировали лецитиназу 79,2% и гемолизины 69,4% была существенно выше ($p < 0,05$) аналогичных показателей в образцах мочи, ДНК-азную активность регистрировали с той же частотой – 29,4%. Стафилококки КО видов продуцировали эти факторы патогенности в 14,8% и 19,6% соответственно, и не обладали ДНК-азной активностью. Стафилококки высевали чаще ($p < 0,05$), из проб мочи у родильниц с диагнозом цистит с широким видовым спектром и выделенные культуры обладали наибольшим патогенным потенциалом.

По нашим данным не все стафилококки, выделенные от родильниц и относящиеся по классификации к КП видам, коагулировали плазму. Факторы патогенности опять сочетались чаще у *S. aureus* ($p < 0,05$), что может свидетельствовать об их инфицировании внутрибольничными штаммами.

Выводы. В результате целенаправленного микробиологического изучения клинического материала от родильниц с инфекционной патологией мочевыделительной системы, которые были выявлены в послеродовом периоде, обнаружено значительное видовое разнообразие представителей рода *Staphylococcus*. В образцах материала полученного из уретры



чаще обнаруживались *S. aureus* (27,6%±2,4), в пробах мочи родильниц *S. epidermidis* (38,1%±4,9) ($p < 0,05$). Причем количество стафилококков, относящихся к КП видам, возрастало. При этом совокупный патогенный потенциал стафилококков КП видов также увеличивался. Несмотря на то, что степень обсемененности стафилококками КО видов ниже, выделяемые штаммы сохраняют высокий уровень патогенности. Такие стафилококки, с одной стороны, могут являться резервуаром патогенности и служить дополнительными факторами вирулентности для признанных патогенов. С другой стороны, входя в ассоциации с высоковирулентными КП стафилококками, они могут обогащаться дополнительными факторами патогенности, становясь потенциальными возбудителями инфекционно-воспалительной патологии среди родильниц.

ОСНАЩЕНИЕ ПОДВИЖНЫХ САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМИ РАСХОДНЫМИ МАТЕРИАЛАМИ

Аминев Р.М., Ланцов Е.В., Артебякин С.В., Кобылкин Д.В.
*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Нештатные подвижные санитарно-эпидемиологические группы (ПСЭГ) являются наиболее эффективной на сегодняшний день формой применения сил и средств военных санитарно-профилактических организаций в условиях учебно-боевой деятельности войск и при ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций. Основные их преимущества – высокая мобильность и автономность, которые достигаются комплектованием групп заранее подготовленным личным составом и оснащением специальной техникой и компактными укладками, позволяющими решать задачи по предназначению.

Решение одной из задач, возлагаемой на ПСЭГ – проведение эпидемиологической диагностики с определением перечня и объема санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий, в большинстве случаев затруднено без лабораторной идентификации возбудителя инфекции. В связи с этим в штат ПСЭГ включаются врач-бактериолог и лаборант.

Лабораторное звено ПСЭГ выполняет микробиологические исследования, как правило, с использованием оборудования лаборатории медицинской полевой (ЛМП), которая состоит из лабораторного и стерилизационно-заготовительного отделений (в кузове-фургоне К.131 на шасси ЗИЛ-131) и лабо-



раторного отделения (в кузове-фургоне КП.2 на шасси прицепа 2-ПН-2М). Оснащение данного автомобиля позволяет осуществлять заготовку питательных сред и растворов для проведения большинства необходимых видов исследований. Однако в условиях длительной автономной работы возникает ряд отрицательных моментов, снижающих мобильность группы. К ним относятся значительные временные затраты на приготовление питательных сред; трудоемкость этого процесса, требующая включения в состав групп дополнительных должностей лаборантов; значительный объем укладок с компонентами питательных сред и лабораторной посуды, затрудняющий их транспортировку и компактное хранение.

В составе микробиологических отделов центров государственного санитарно-эпидемиологического надзора (ЦГСЭН) имеются отделения заготовки питательных сред и растворов. Так как ПСЭГ формируется за счет сил и средств ЦГСЭН, возможно оснащение группы укладками с питательными средами, заранее приготовленными в стационарных условиях. Это значительно уменьшит габариты укладок, избавит группы от необходимости приготовления сред «на месте» и может способствовать повышению их мобильности без ущерба для автономности. Однако приготовленные среды имеют достаточно ограниченный срок хранения, большинство из них требуют особых условий хранения и транспортировки, что в конечном итоге не позволяет широко их использовать. При хранении готовых к выездам укладок со средами, необходимо часто освежать их, что экономически невыгодно.

В настоящее время на рынке представлен широкий ассортимент питательных сред в готовом к употреблению виде. Основные их преимущества заключаются в отсутствии необходимости приготовления, сокращении трудозатрат и времени на проведение микробиологических исследований. Оснащение ПСЭГ такими питательными средами позволит сохранить высокую мобильность и автономность групп. Однако возникает ряд вопросов, требующих более детального изучения:

Сравнение экономических затрат на приготовление сред в лаборатории ЦГСЭН и стоимости готовых питательных сред.

Сравнение условий и сроков хранения предлагаемых производителями готовых питательных сред и сред, приготовленных в лаборатории ЦГСЭН.

В результате изучения этих двух вопросов должен быть сделан вывод о медико-экономической эффективности внедрения закупок готовых питательных сред для оснащения ими нештатных ПСЭГ. Для этого целесообразно в условиях ЦГСЭН военных округов провести сравнительные исследования предлагаемых отечественной промышленностью образцов. Полученные результаты позволят выработать предложения руководству военно-медицинской службы по оснащению ПСЭГ расходным лабораторным имуществом.



ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕТОДОВ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ХЛАМИДИЙНЫХ ЦЕРВИЦИТОВ

Ахмедова Р.С., Омарова С.М., Муслимов М.О.

*Дагестанский государственный медицинский университет,
г. Махачкала*

В настоящее время хорошо разработаны методы лабораторной диагностики хламидийной инфекции. Однако до сих пор не удается выявить наиболее оптимальный диагностический тест, который позволил бы решить проблему борьбы с хламидийными эндоцервицитами.

Традиционный для микробиологических лабораторий культуральный метод диагностики, как правило, оправдывает себя для выделения и идентификации патогена с определением чувствительности к антибиотикам и вирулентности легкокультивируемых микроорганизмов. Однако некоторые микроорганизмы могут быть чрезвычайно чувствительными к условиям забора клинического материала, транспортировки и культивирования, наличию специальных факторов роста или способны к размножению *in vitro* только в культуре клеток (вирусы, хламидии, риккетсии).

С целью выявления хламидиозной инфекции обследовано 228 женщин репродуктивного возраста (17-40 лет), с клиническими проявлениями цервицита. У всех пациенток предварительно исключили гонококковую инфекцию бактериоскопическим и бактериологическим методами.

Материалы и методы. Исследования проводили с помощью комплекса лабораторных методов диагностики урогенитальной хламидийной инфекции: метод выявления антигена (АГ) хламидий флюоресцирующими моноклональными антителами (АТ) в реакции прямой иммунофлюоресценции (РИФ); метод полимеразной цепной реакции (ПЦР); реакция непрямой иммунофлюоресценции (рНИФ), для определения антител.

Обследованный контингент женщин был распределен в две группы. Первую группу составили 142 женщины с диагнозом «неспецифический» эндоцервицит (средний возраст – 28,4±3,6). Во вторую группу были включены 78 пациенток с бесплодием (средний возраст – 30,3±1,2).

Результаты и обсуждение. В первой группе хламидийная инфекция была выявлена у 61 женщины (42,9%). Во второй группе – у 36 (46,2%). Хламидийный антиген в эпителиальных клетках цервикального канала был выявлен у 65 из 142 пациенток с эндоцервицитом, у 38 из 78 женщин с бесплодием.

Для метода РИФ диагностическая специфичность и чувствительность составили 95,2% и 93,8% в первой группе женщин с эндоцервицитом, 95,5%



и 91,7% - во второй группе женщин с бесплодием. Достаточно низкая диагностическая чувствительность РИФ (91,7%) у женщин 2-ой группы могла быть связана с двумя ложноотрицательными результатами из-за недостаточного количества клеток цилиндрического эпителия в пробах. Полученные данные свидетельствуют о том, что РИФ является специфичным и высокочувствительным тестом для диагностики хламидийной инфекции при разнообразной генитальной патологии.

Применение этих методов не только в научных целях, но и в практической лабораторной диагностике стало возможным в немалой степени благодаря созданию в середине 80-х годов процесса искусственного многократного копирования ДНК и дальнейшему стремительному развитию этой технологии, в настоящее время известной как полимеразная цепная реакция (ПЦР). Менее чем за 15 лет своего существования ПЦР сделала рутинным анализ специфических ДНК-последовательностей многих патогенных микроорганизмов. Универсальность, высокая чувствительность и относительная простота исполнения сделали метод ПЦР незаменимым для решения различных задач клинической диагностики, таких, как прямое обнаружение и идентификация возбудителей заболеваний, молекулярное типирование и исследование свойств патогенных микроорганизмов, анализ мутаций, связанных с генетическими заболеваниями у человека, идентификация личности человека. Настоящая статья посвящена рассмотрению наиболее общих принципов ПЦР и использованию этой технологии в области клинической микробиологии.

При использовании ПЦР хламидийная инфекция в первой группе была выявлена у 60 (42,3%) из 142 женщин, во второй группе – у 35 (42,9%) из 78 пациенток. Диагностическая специфичность и чувствительность ПЦР составили 98,7 и 98,4% в первой, 97,7% и 97,3% – во второй.

При оценке результатов серологического обследования мы обращали внимание не столько на общую частоту выявляемой серопозитивности, сколько на показатели интенсивности, определяемой по показателям титра АТ. Полученные результаты показывают, что наиболее часто встречающийся титр антихламидийных антител в сыворотках крови женщин с бесплодием – 1/128 (47,4%), что может иметь диагностическое значение, даже без исследования парных сывороток.

В группе женщин с бесплодием в 11 случаях методы РИФ и ПЦР показали отсутствие возбудителя хламидиоза, а в РНИФ отмечалось присутствие антител в титрах $1/128$ (1/128-7 случаев, 1/256-2 случая, 1/512 – 2 случая). Это объясняется «высокой» локализацией патологического процесса с поражением органов малого таза. У двух женщин методом ПЦР была выявлена ДНК возбудителя и титры АТ составили 1/128 и 1/156, а результаты РИФ были отрицательны. Возможно, в этом случае ПЦР выявляет ДНК некультивируемых форм хламидий. Еще у двух пациенток титры хламидийных антител оказались



ниже диагностических ($>1/64$), но в реакции РИФ и ПЦР были обнаружены АГ и ДНК *S. trachomatis*. Это свидетельствует о наличии хламидийной инфекции, однако бесплодие может иметь другую природу.

Выводы. При сравнении диагностической значимости использованных методов, рассчитанной при помощи коэффициента корреляции Спирмена, была обнаружена высокая степень корреляции каждого метода. Для выявления хламидийной инфекции при бесплодии наиболее значимыми (по данным наших исследований) являлись методы рНИФ и ПЦР.

ПРОБЛЕМА ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В ВОЕННОЙ МЕДИЦИНЕ

**Бельгесов Н.В., Вильянинов В.Н., Скрипай Л.А.,
Тихменева И.Б., Малкова И.В., Щеглова И.В.**
*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Введение. Современная трансфузиология предполагает использование биологически полноценных, высокоэффективных и безопасных компонентов и препаратов крови. Ключевое значение в проблеме безопасности гемотрансфузионной терапии имеет значение профилактики гемотрансмиссивных декретированных инфекций (ВИЧ, гепатиты В и С, бледная трепонема). Пристальное внимание специалистов в проблеме иммунодефицитных состояний привлекают инфекционные агенты, поражающие иммунокомпетентные клетки и вызывающие иммунодепрессию. Как правило, взаимоотношения таких микроорганизмов реализуются по принципу отрицательной обратной связи: активированный и размножающийся патоген угнетает резистентность организма хозяина, создавая условия для развития инфекционного процесса с поражением различных органов, а также провоцирует возникновение онкологических и инфекционных болезней.

Клинически значимый, широко распространенный патоген такого рода – это цитомегаловирус человека, который относится к семейству вирусов герпеса. В настоящее время установлено, что цитомегаловирус способен передаваться через биологические жидкости (слюна, моча, сперма, кровь) при различных контактах с больным человеком, переливании гемокомпонентов, аллотрансплантациях и может иметь длительный латентный период.

Технология заготовки, производства и применения гемокомпонентов имеет решающее значение в профилактике цитомегаловирусной инфекции у реципиентов гемокомпонентов. Добиться успеха в снижении гемотрансмис-



сивной цитомегаловирусной инфекции можно при использовании серонегативной крови, отмытых и размороженных эритроцитов, лейкоцитарных фильтров. Профилактический эффект удаления лейкоцитов равноценен использованию серонегативных гемокомпонентов.

Цель работы состояла в том, чтобы определить носительство иммуноглобулинов класса IgG и IgM у кадровых и первичных доноров.

Материалы и методы. Нами в течение 2015-2016 гг. было обследовано первичных доноров 243 человека мужского пола в возрасте от 21 до 45 лет и кадровых доноров 89 человек: 82 – мужского пола и 7 – женского. В работе применяли диагностические наборы ИФА Вектор-Бест отечественного производства. Из 243 первичных доноров у 213 (86%) человек выявили иммуноглобулины класса IgG и у 3 (1,23%) –дополнительно класса IgM. У 73 кадровых доноров (82%) обнаружили иммуноглобулины класса IgG, класса IgM – нет.

Вывод. Процент инфицирования доноров как первичных, так и кадровых достаточно высок, что необходимо учитывать при подборе пар «реципиент-донор», при трансплантации различных органов, переливании лейкоцитов и тромбоцитосодержащих гемокомпонентов.

ИНФЕКЦИОННАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ ГЕМОТРАНСФУЗИОННОЙ ТЕРАПИИ

**Бельгесов Н.В., Вильянинов В.Н., Тихменева И.Б.,
Малкова И.В., Белозеров Е.С., Калеко С.П.,
Романенко С.М., Скрипай Л.А., Щеглова И.В.**
*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Введение. Переливание крови и ее компонентов входит в перечень обязательных врачебных действий и является неотъемлемым элементом повседневной практики лечебных учреждений. Основные направления совершенствования специализированной медицинской помощи в неотложной хирургии, гематологии, онкологии, трансплантологии, кардиохирургии предусматривают массивную гемотрансфузионную терапию с целью профилактики и коррекции геморрагического, анемического и иммунодефицитного синдромов, возрастает потребности свежезамороженной и плазмы и тромбоцитоконцентра. Все это требует адекватного иммунологического обеспечения и, что очень важно, оперативного решения вопросов профилактики гемотрансмиссивных инфекций. В настоящее время инфекционных агентов, передающихся с компонентами и препаратами крови, насчитывается более 140.



В соответствии с действующими требованиями обязательному лабораторному ИФА-исследованию подлежит кровь доноров на – ВИЧ, гепатиты В и С, сифилис. С 2013 года. С 2013 года – на ВИЧ, инфекционные гепатиты В и С, сифилис – обязательное дублирование методами NAT-тестирования (полимеразная цепная реакция). Предполагаем, что в ближайшее время перечень маркеров инфекций расширится.

Цель работы. Проанализировать итоги работы лаборатории инфекционной иммунологии Центра (крови и тканей) ВМедакадемии им. С.М. Кирова на декретированные инфекции в период с 1993 года по 2016 год. В работе в различные годы применялись диагностические тест-системы различных отечественных («Эколаб», «Вектор-Бест», «Авиценна», «Инвитролоджик», «Диагностические системы» и др.), иностранных («ORTHORIBA», «BIO-RAD»). За указанный период обследовано 228659 доноров из которых 92% являлись военнослужащими в возрасте 18-25 лет, 8% – гражданские лица и доноры-родственники. Среди кадровых доноров за период наблюдения маркеры инфекций не выявлены.

Маркеры ВИЧ-инфекции выявлены в 2001 году у 10 доноров, с 2002 по 2013 гг. – по 1-2 случая в год, 2014-2016 гг. – случаев выявления не было.

Маркеры гепатита В – процент выявления составлял от 1,0% до 1,2% в период с 1994 по 1998 гг. и в 2002 году. В другие годы процент колебался от 0,97% в 2001 г. до 0,07% в 2016 г.

Маркеры гепатита С – процент выявления у первичных доноров составлял от 1,4% до 2,6% в 1993-2001 гг., затем поступательно снижался до 0,03% в 2016 году. Следует отметить, что впервые в нашей практике при отрицательных показаниях в ИФА-теста тест-системе BIO-RAD был получен положительный результат исследования ПЦР, то есть, нами выявлен донор еще до фазы антителообразования.

При обследовании на сифилис колебания составили от 0,15% до 0,25% и самый низкий показатель 0,13% – отмечен в 2016 году. Более высокие показатели отмечались в осенний и весенний периоды.

Выводы. 1. Резкое снижение случаев обнаружения гепатита В среди доноров с 2001 года является следствием активного проведения вакцинации в масштабах страны.

2. Очевидное снижение показателей инфицирования среди военнослужащих связано с предварительным проведением обследования на ВИЧ, гепатиты В и С призывников и абитуриентов военных училищ с 2000 года.

3. Существенный вклад в снижение показателей внесло улучшение социально-экономического состояния в стране.

4. Значимым является факт оснащения лабораторий инфекционной иммунологии современным высокотехнологичным автоматизированным оборудованием.



ПРОБЛЕМА БИОПЛЕНОК В МЕДИЦИНЕ

**Бунтовская А.С., Нагибович О.А., Пелешок С.А., Болахан В.Н.,
Протасов О.В., Астанина А.К., Демидов Д.М., Иванов И.А.**
*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

В настоящее время принято считать, что основной формой существования бактерий в естественной среде являются связанные с поверхностями сообщества оседлых, так называемых сессильных микроорганизмов, формирующих биопленки, а не отдельные, свободно плавающие, планктонные клетки. Биопленка - это организованное сообщество микроколоний бактерий, тесно взаимодействующих между собой, сформированное на биологической или искусственной поверхности и погруженное во внеклеточную полимерную субстанцию (экзополимерсахаридный матрикс). О роли биопленок в формировании инфекционного процесса различных локализаций известно уже более 25 лет. По данным различных исследований они обнаруживаются в 60-80% случаев всех бактериальных инфекций.

С целью изучения особенностей образования, физиологии существования и преобладающего состава биопленок для последующей разработки адекватных мер борьбы с ними и профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, проведен анализ отечественных и зарубежных публикаций за период с 2008 года по настоящее время.

Внеклеточный матрикс биопленок синтезируется бактериями для удержания вместе колоний микроорганизмов и защиты их от внешних факторов. Матрикс состоит из полисахаридов, протеинов и внеклеточной ДНК. Колонии микроорганизмов в биопленках растут в виде стеблей или грибов, имеющих сложную архитектуру с каналами, являющимися примитивной циркуляторной системой, обеспечивающей питание и детоксикацию сообщества.

Процесс формирования биопленки проходит через четыре стадии: обратимой адгезии, занимающей по времени всего несколько секунд, следующей за ней стадией необратимой адгезии, роста и развития, отслоения. Адгезия микроорганизмов чаще происходит на омертвевших тканях, однако образование биопленок возможно и на жизнеспособных тканях, например при эндокардите. Формирование зрелой биопленки занимает около 24 часов. В результате отслоения, клетки, отделившиеся от биопленки, разносятся по организму и формируют новые сообщества. Твердые, гидрофобные поверхности (полиэтиленовые, поливиниловые, латексные) являются наиболее благоприятными для адгезии микроорганизмов. В настоящее время не существует материалов, обеспечивающих полную защиту от биопленкообразования и в то же время безвредных для организма человека. Толщина зрелых биопленок в организме редко превышает 100 нм, в отличие от искусственных поверхностей и искусственно созданных моделей, где они достигают 150 нм.



Физиология sessильной формы бактерий значительно отличается от ее планктонной формы. Тесная и стабильная организация биопленок, создает оптимальные условия для повышенного обмена информацией между микроорганизмами, способствует их взаимодействию клеток друг с другом. Высокоорганизованное сообщество бактерий способно к межвидовому общению и регуляции своей деятельности с помощью секретируемых феромонов. Плотность популяции биопленки, ее рост, метаболизм, миграция клеток регулируется на популяционном уровне посредством межклеточной коммуникации. Синергизм бактериальных клеток в биопленке делает их невосприимчивыми к антибактериальным препаратам и устойчивыми к факторам иммунной системы. В ответ на антигены sessильных форм бактерий организмом продуцируются антитела, которые не эффективны в отношении биопленок, и вызывают иммунокомплексное повреждение окружающих тканей. Недавно стало известно, что бактерии в биопленке могут общаться между собой с помощью электрических сигналов. На модели биопленки *Bacillus subtilis*, показано, что адгезия свободно плавающих клеток (не только своего вида, но и *Pseudomonas aeruginosa*) происходит только в момент генерации электрического импульса.

В различных исследованиях установлено, что биопленки в большинстве случаев образованы несколькими видами бактерий, грибов, дрожжей и др. Наиболее распространенными возбудителями инфекций среди них являются *Pseudomonas aeruginosa*, стафилококки (*Staphylococcus aureus* и *epidermidis*), стрептококки, *Enterococcus faecalis*, грибы рода *Candida* и др.

Приведенные данные убедительно демонстрируют актуальность проблемы биопленок в современной медицине. Необходимо полное понимание физиологии и метаболизма биопленок, патогенеза воспалительного процесса, для разработки адекватных средств борьбы с ними.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ИШЕМИИ СПИННОГО МОЗГА У КРЫС

Велиханов Ф.Т., Алиев К.Т.

*Дагестанский Государственный Медицинский Университет,
г. Махачкала*

Резюме. Актуальность. Спинальный инсульт сопровождается грубыми, стойкими неврологическими и соматическими расстройствами. Моделирование ишемии позволяет изучить патофизиологические процессы в спинном мозге и улучшить результаты лечения.

Цель исследования. Разработка экспериментальной модели ишемии спинного мозга.



Материал и методы исследования. Хронический эксперимент проводился на модели крыс линии Sprague-Dawley одного пола возраста и массы. Наркоз под общей анестезией хлоралгидратом (450 мг/кг), введенным внутривенно. Первой модели перевязку брюшной аорты ниже почечных артерий, во второй модели пересечение коллатералей, идущих от брюшной аорты ниже почечных артерий к позвоночнику, не пересекая аорту, третья модель пересечение коллатералей, идущих от брюшной аорты ниже почечных артерий к позвоночнику и перевязка нижней полой вены на этом же уровне. Наблюдала за неврологическим дефицитом, затем осуществляли введение бриллиантовой сини и изучение макропрепаратов с последующим гистологическое исследование срезов пояснично-крестцового отдела спинного мозга животных для выявления ишемических изменений в нейронах.

Результаты исследования. В ходе исследования удалось проверить три модели ишемии. Первая модель вызывала острую ишемизацию, вторая и третья вызывали хроническую ишемию. В цитоархитектонике спинного мозга опытных животных выявлено преобладание гиперхромных сморщенных и несморщенных нейронов и клеток-теней, а также глиальная реакция.

Выводы. 1. В модели с окклюзия брюшной аорты ниже почечных артерий у крыс Sprague-Dawley невозможно отдифференцировать периферической перемежающейся хромотой от миелогенной перемежающейся хромотой;

2. Модель два и три приводят к хроническому ишемическому поражению пояснично-крестцовых сегментов спинного мозга и могут быть рассмотрены как модели ишемического спинального инсульта у крыс.

ОПЫТ ОРГАНИЗАЦИИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ВОЕННЫХ ГАРНИЗОНАХ, ДИСЛОЦИРОВАННЫХ В ПУСТЫНЕ ГОБИ (МОНГОЛИЯ) В ПЕРИОД С 1974 ПО 1989 ГГ.

Ветлужских А.А., Телятников М.А.

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,

Санкт-Петербург,

1027 Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора

Восточного военного округа,

г. Чита

В период с 1974 по 1989 г.г. на территории Восточно-Гобийского аймака республики Монголия дислоцировалось значительное количество частей Забайкальского военного округа, общей численностью войск более 50 тыс. человек. Наиболее крупными из гарнизонов (по количеству личного состава)



являлись гарнизоны: Чойрен (Чойр), Сайн-Шанд (Сайн-Шанда), Мандал-Обо (Мандал-Гоби), Шиви-Обо (Шиви-Гоби, 35-я площадка). Кроме того, имелось значительное количество небольших гарнизонов.

С 1974 г. Сайн-Шандинский и Мандал-Гобийский гарнизоны обеспечивала бактериологическая лаборатория СПЭВ 10-го медико-санитарного батальона, гарнизоны Чойр и Шиви-Гоби находились на обеспечении 447 СЭО (гарнизона) с 1982 года. В зоне ответственности 10-го медико-санитарного батальона (бактериологической лаборатории СПЭВ) находилось до 10 тыс. человек, бактериологического отделения 447 СЭО (гарнизона) до 40 тыс. человек.

Актуальность микробиологических исследований в частях на данной территории была обусловлена существованием активного природного очага чумы Восточно-Гобийского аймака. Так, в 1976 г. в районе Чойр имела место вспышка чумы среди местного населения. Медицинская служба ЗабВО развернула в данном гарнизоне ВПИГ ООИ на 50 коек (и до 50 коек в резерве). Кроме того, из СССР в Улан-Батор был направлен противочумный отряд (ПЧО), специалисты которого проводили исследования на чуму с 1983 по 1989 г.

Санитарно-эпидемиологическое состояние частей на территории Восточно-Гобийского аймака стабильно оценивалось как неустойчивое, а в ряде случаев и неблагоприятное по ОКИ (первое место занимал вирусный гепатит А) и ОРИ (ОРВИ).

На таблице 1 показано количество микробиологических исследований, проводимых в зонах ответственности в анализируемый период.

Таблица 1.

Количество микробиологических исследований в частях зоны ответственности (ежегодно)

Подразделение	Количество		
	Усредненно	В том числе (в %)	
		Санитарно-бактериологические*	Диагностические
Бактериологическая лаборатория СПЭВ 10-го МСБ (гарнизон Сайн-Шанд)	2700 - 4300	93-95	5-7
Бактериологическое отделение 447 СЭО (гарнизон Чойр)	29000 - 42000	88-85	12-15
Лаборатория ПЧО (г. Улан-Батор)	5000 - 6700	-	100
Всего:	36700 - 52000	-	-

*Примечание: Большое значение имели санитарно – бактериологические анализы воды, добытой из водоисточников в пустыне Гоби



Таким образом, организация микробиологических исследований в анализируемом периоде в частях военных гарнизонов, дислоцированных на территории пустыни Гоби, находилась на достаточно высоком уровне, что позволило в указанный период обеспечить относительное эпидемиологическое благополучие войск.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВОДЫ ПРИ РАЗМЕЩЕНИИ ЧАСТЕЙ И ВОИНСКИХ ПОДРАЗДЕЛЕНИЙ ВС СССР НА ТЕРРИТОРИИ МОНГОЛИИ

Ветлужских А.А., Телятников М.А.

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,

Санкт-Петербург,

1027 Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора

Восточного военного округа,

г. Чита

Пустыня Гоби – каменистая безводная пустыня, занимающая почти три четверти территории Монголии, переходящая на юге в песчаную пустыню Алашань (Внутренняя Монголия, в составе КНР). Это наиболее опасный легкопреодолимый участок при боевых действиях по направлению к территории Бурятии и Забайкальского края (Восточный военный округ).

В 1945 г. во время войны СССР с милитаристской Японией советские войска совершили беспрецедентный бросок через Большой Хинган и пустыню Гоби, ударили в левый фланг Квантунской армии, после чего полуторамиллионная японская армия капитулировала.

Главную проблему для Советских войск тогда составляло отсутствие воды. В Монголии лишь три реки, которые протекают в северной ее части: приграничная Селенга, «голубой» Керулен и Улан–Баторская Тола. В Гоби открытые водоисточники до последнего времени полностью отсутствовали. С 60–х годов XX века инженерной службе Советской Армии была поставлена задача провести разведку «на воду» и оборудовать ТВД в инженерном отношении, обеспечив надежное водоснабжение войск при необходимости. Бурение скважин по всей территории МНР было поручено советским геологам и инженерной службе войск. В результате только в Восточно–Гобийском аймаке было пробурено более сотни скважин, глубиной от 90 до 130 м., а также оборудованы колодцы – «вертушки».



В Восточно–Гобийском аймаке пробы воды доставлялись в бактериологическую лабораторию СПЭВ медико–санитарного батальона (г. Сайн-Шанд). Анализы показали, что вода соответствует ГОСТу.

Проблема водоснабжения войск в пустыне Гоби была полностью решена. На сегодняшний день этой водой пользуются монгольские араты, а часть скважин законсервирована.

РАЗРАБОТКА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ РАННЕГО ВЫЯВЛЕНИЯ БАКТЕРИЙ BURKHOLDERIA CEPACIA COMPLEX В МОКРОТЕ БОЛЬНЫХ МУКОВИСЦИДОЗОМ

Викторов Д.А.¹, Тороповский А.Н.¹, Никитин А.Г.¹,
Кондратенко О.В.², Хохлова Ю.В.¹, Журавская Н.П.¹

¹Общество с ограниченной ответственностью «Джинэкс»,
г. Ульяновск,

²Самарский государственный медицинский университет,
г. Самара

Цель. *Burkholderia cepacia complex* (ВСС) представляет собой группу бактерий, включающую по меньшей мере 18 видов, в том числе *B. cepacia*, *B. multivorans*, *B. cenocepacia*, *B. vietnamiensis*, *B. stabilis*, *B. ambifaria*, *B. dolosa*, *B. anthina*, *B. rugocinia* и *B. ubonensis*, являющихся оппортунистическими микроорганизмами, способными вызывать госпитальные инфекции (раневые, катетер-ассоциированные, пневмонии, в том числе у больных, находящихся на ИВЛ). Особую опасность данные бактерии представляют для лиц с иммунодефицитами различного генеза – больных муковисцидозом и хроническим гранулематозом, у которых бактерии рода *Burkholderia* способны вызвать эндокардиты, некротизирующую пневмонию с септициемией, зачастую заканчивающуюся летальным исходом (так называемый «цепация-синдром»).

Бактерии ВСС принадлежат к патогенам, идентификация которых требует одновременного использования современных бактериологических, биохимических и молекулярно-генетических методов. Подобным комплексом методов обладает не каждая бактериологическая клиническая лаборатория, что затрудняет быструю и эффективную диагностику. По данным зарубежных авторов, ДНК бактерий ВСС в мокроте пациентов с муковисцидозом может появляться более чем за год до первичного высева возбудителя на питательной среде. При этом, в настоящее время в Российской Федерации не проводится подобное исследование у пациентов данной группы. Применение молекуляр-



но-генетической тест-системы позволит значительно эффективнее выявлять ВСС, а, следовательно, служить методом ранней диагностики бронхолегочных осложнений у пациентов с муковисцидозом, и, как следствие, поможет снизить частоту развития осложнений и летального исхода.

Целью разработки являлось создание ПЦР-тест-системы для выявления бактерий, относящихся к ВСС, среди представителей которого наиболее частыми возбудителями цепацация-синдрома являются 4 вида: *V. ceracia*, *V. multivorans*, *V. senocercacia*, *V. vietnamiensis*.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования использовали бактериальные культуры 17 штаммов *V. senocercacia*, а также 13 проб мокроты больных муковисцидозом с параллельным проведением бактериологического посева. Определение специфичности тест-системы проводили на 12 штаммах возможных ассоциантов: *Achromobacter denitrificans*, *Achromobacter insolitus*, *Achromobacter xylosoxydans*, *Brevundimonas diminuta*, *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Sphingobacterium multivarum*. Бактериальные штаммы и образцы мокроты с результатами бактериологического посева, выполненного с использованием среды OFPBV для ВСС, были предоставлены Микробиологическим отделом КДЛ Клиник ФГБОУ ВО СамГМУ МЗ РФ. Совместные исследования были проведены на базе лаборатории ООО Джинэкст и КДЛ ФГБОУ ВО СамГМУ МЗ РФ.

В работе были использованы олигонуклеотидные праймеры и TaqMan зонды для ПЦР в реальном времени, разработанные коллективом авторов исходя из данных NCBI GeneBank. Для достижения цели исследования в качестве последовательности-мишени был выбран участок гена *parB* (*partitioning protein*), длиной 75 п.о. и консервативный для группы *V. ceracia*, *V. multivorans*, *V. senocercacia*, *V. vietnamiensis*.

Для выделения ДНК возбудителей инфекции из бактериальных культур и мокроты использовали набор реагентов «РеалБест экстракция 100» («Вектор-Бест», Новосибирск). Для амплификации в работе использовали «Готовую смесь для ПЦР qPCRMix-HS» (состав: HS Taq ДНК полимеразы, смесь нуклеотидтрифосфатов, Mg^{2+} и реакционный буфер) («Евроген», Москва), а также детектирующий амплификатор DTprime («ДНК-Технология», Москва).

Протокол амплификации был оптимизирован экспериментально.

Результаты и обсуждение. Исследование характеристик разработанной молекулярно-генетической тест-системы для раннего выявления бактерий ВСС в мокроте больных муковисцидозом показало, что положительный результат реакции наблюдался для всех 17 бактериальных культур штаммов *V. senocercacia*; отрицательный результат был получен для всех 12 исследованных штаммов возможных ассоциантов, а также на человеческой ДНК и отрицательных контрольных образцах (ОКО).



В рамках научного исследования была проведена клиническая апробация тест-системы и получены следующие результаты: из 13 проб мокроты больных муковисцидозом 12 оказались положительными (в бактериологическом посеве 11 из них также выявлялась *V. cenocepacia*, в 1 образце – *V. multivorans*), 1 проба отрицательная (результат бактериологического посева также отрицательный).

Полученные результаты свидетельствуют о высокой специфичности разработанной тест-системы.

Выводы. В результате проведенных исследований коллективом авторов разработана молекулярно-генетическая тест-система для раннего выявления бактерий ВСС в мокроте больных муковисцидозом, выполнен дизайн праймеров и зондов для проведения ПЦР в реальном времени, оптимизирован протокол амплификации. Экспериментально доказана специфичность тест-системы по отношению к ДНК *V. cenocepacia* и *V. multivorans*, являющихся наиболее распространенными представителями ВСС.

ВЗАИМОСВЯЗЬ УРОВНЯ ЭНДОТОКСИНА В КРОВИ И ТЯЖЕСТИ СОСТОЯНИЯ СТАЦИОНАРНЫХ ПАЦИЕНТОВ С ДЕКОМПЕНСАЦИЕЙ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

**Власов А.А.¹, Гриневич В.Б.¹, Саликова С.П.¹,
Быстрова О.В.², Осипов Г.А.²**

*¹Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург,*

*²Международный аналитический центр
на базе Института органической химии
имени Н.Д. Зелинского Российской академии наук,
Общество с ограниченной ответственностью «Интерлаб»,
Москва*

Цель исследования. Установить взаимосвязь уровня эндотоксина (Э) в крови и тяжести состояния стационарных пациентов с декомпенсацией хронической сердечной недостаточности (ХСН).

Материал и методы. Обследованы 20 стационарных пациентов (3 женщины и 17 мужчин) в возрасте 61 ± 2 лет (от 44 до 74) с ХСН ишемического генеза и фракцией выброса левого желудочка сердца (ФВ) менее 50%. Пациентам в первые 3 дня проводилось стандартное клиническо-инструментальное обследование, а также осуществлялся тест с шестиминутной ходьбой.



Состояние пациентов оценивалось с использованием шкалы оценки клинического состояния больного с ХСН В. Ю. Мареева (ШОКС). Э определяли в венозной крови методом масс-спектрометрии микробных маркеров (МСММ) по суммарному количеству гидроксикислот грамотрицательных бактерий. Полученные данные были обработаны с помощью прикладной программы Microsoft Office Excel, Statistica for Windows 7.0. Для выявления взаимосвязи использовался корреляционный анализ, в который включались переменные, имеющие нормальное распределение. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты. У всех пациентов диагностировалась задержка жидкости в организме. Средняя ФВ составила $31,9 \pm 2,3\%$, ТШХ - 280 ± 30 м, средняя оценка по ШОКС - $9,8 \pm 0,5$ балла. II ф.к. ХСН (по ШОКС) диагностировался у I, III ФК - у 10, IV ФК - у 9 пациентов. Уровень Э в крови составил $0,27 \pm 0,026$ нмоль/мл (при норме до 0,5) и коррелировал с функциональным статусом пациентов. Так выявлена прямая средней силы связь между Э и количеством баллов по ШОКС ($r = 0,51$, $p < 0,05$), обратная средней силы связь между Э и дистанцией ТШХ ($r = 0,47$, $p < 0,05$).

Выводы. Выявленные корреляции отражают взаимосвязь между уровнем эндотоксина в крови и степенью тяжести состояния пациентов с ХСН и сниженной систолической функцией левого желудочка. Уровень эндотоксинемии может являться интегральной количественной мерой тяжести состояния при декомпенсации ХСН. Метод МСММ может быть использован для оценки эндотоксинемии при ХСН. Необходимо накопление данных для более точного понимания роли эндотоксинемии при сердечной недостаточности.

ИНДИКАЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДСТВ НА ОСТРОВЕ МАТУА

Волков И.И.

*736 Главный центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора
Министерства обороны Российской Федерации,
Москва*

Покинутый в недавнем прошлом остров Матуа Курильской гряды в настоящее время вновь осваивается в качестве одной из баз ТОФ МО РФ. Помимо ежегодных гражданских экспедиций Русского Географического общества, начиная с 2016 года к исследованию острова активно подключилось Министерство обороны РФ.



Официальных данных о производстве и (или) хранении биологического оружия на о. Матуа нет, но при этом существуют косвенные признаки, не исключающие такой возможности: остатки защитной одежды; остатки лабораторной посуды; большое количество подземных складов в т.ч. боеприпасов; аэродром базирования тяжелых бомбардировщиков; намерения правительства Японии применять оружие массового поражения; активные научно-исследовательские работы с различными возбудителями инфекций, в том числе особо опасных инфекций; изолированное расположение острова, которое препятствует распространению любой инфекции.

Предположительно из многочисленных потенциальных возбудителей биологического оружия за 70 лет хранения могли сохраниться в жизнеспособном состоянии только споры сибирской язвы. Присутствие на острове грызунов (мыши, крысы) и лис не исключали возможного существования природного очага таких инфекций как чума и туляремия.

Поэтому важным направлением работы экспедиции 2016 г. на о. Матуа являлась специфическая индикация БС. Для этого использовалась лаборатория медицинская полевая (ЛМП), на базе ЗИЛ-131 с прицепом 2ПН-2Н. Помимо штатного оснащения для работы в полевых условиях, ЛМП имела следующее специальное оборудование: микроскоп люминесцентный полевой МЛП-01 (ЛОМО), комплект оборудования для проведения ПЦР в полевых условиях в кейсе «Корсар» (ДНК-Технологии), прибор для проведения ПЦР в режиме реального времени АНК-32 (Синтол), комплект точечного иммуноферментного анализа КТИА-01 (Москва), необходимый запас диагностических тест-систем для проведения ПЦР «ДНК-Технология», люминесцентные диагностические сыворотки (противочумный институт «Микроб», Саратов). Для отбора и доставки проб имелись комплекты МКОП и КПО-1М. В качестве защитной одежды применялись классические противочумные костюмы, костюмы КВАРЦ-1М и новейшая разработка – костюм торговой марки «LAMSISTEMS» производства г. Миаз Челябинской области. Оснащение лаборатории дополнительным оборудованием, позволил проводить до 200 исследований в сутки.

Спектр определяемых возбудителей включал в себя весь перечень бактериальных, вирусных агентов, риккетсий и токсинов, которые могут использоваться в качестве биологического оружия (всего 25 наименований).

Поиск БС осуществлялся по трем направлениям.

1. Доказательство или опровержение наличия на острове природного очага ООИ, который мог сформироваться за счет многочисленной популяции мышей и крыс, а также лис. При наличии на острове склада или лаборатории по производству БС, грызуны могли добраться до разбитых биологических бо-



еприпасов и использовать их начинку в качестве корма. Этому способствовали подрывы входов в подземные помещения, землетрясения и извержения вулкана. Дальше очаг чумы, туляремии и других инфекций мог уже поддерживаться внутри популяции грызунов в естественной среде обитания.

В ходе проведенного зооэнтомологического обследования были отловлены и исследованы тридцать мышевидных грызунов (методом флюоресцирующих антител исследовано 600 мазков-отпечатков), возбудителей ООИ (сибирская язва, туляремия, чума, лихорадка Цуцугамуши, бруцеллез) не выявлено. Из внутренних органов мышей приготовлены взвеси для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР), иммуно-ферментного анализа (ИФА) и иммунохроматографического метода (ИХМ). Выполнено 300 анализов в ПЦР-РВ, 120 методом ИФА и 30 ИХМ. Возбудителей ООИ (сибирская язва, чума) у обследованных мышей не обнаружено.

Многолетнее присутствие на острове советских военнослужащих (погранзастава, часть ПВО) и отсутствие у них ООИ также опровергает возможность формирования природного очага на о. Матуа.

2. Обследование доступных фортификационных сооружений на наличие в почве спор сибирской язвы и(или) остатков ДНК бактерий, которые могли по каналам вентиляции попасть в пыль и почву из подземных помещений. Для этого отбирались многочисленные смывы с поверхностей данных защитных сооружений и пробы почвы с поверхности, с глубины 15-30 см и с глубины 50-70 см.

3. Исследование проб почвы, воздуха и смывов отобранных из подземных помещений, которые были найдены экспедицией.

Всего отобрано и исследовано 140 проб почвы в 14 доступных для исследования ДОТах и 20 проб из подземных помещений, 24 пробы воздуха (только из подземных сооружений совместно с представителями РХБЗ), 100 смывов (80 и 20 соответственно) на идентификацию спор, вегетативных форм сибирской язвы и ДНК данного микроорганизма. Из каждой пробы приготовлено, после специальных методов обогащения, по 10 мазков-отпечатков (всего 1600) для метода флюоресцирующих антител. Из смывов, после «отбивки» тампонов и последующего ультрацентрифугирования были приготовлены 100 жидких проб для метода ПЦР и ИФА. Возбудителя сибирской язвы, их остатков (ДНК) и спор не было выявлено.

Таким образом: природных очагов зооантропонозов не выявлено. Предпосылок природного генеза для возникновения очагов инфекционных заболеваний нет. По лабораторным данным признаков производства и хранения оружия массового поражения (биологического) на территории острова не выявлено.



ИСПЫТАНИЯ «ЖИВУЧЕСТИ» НОВОГО СРЕДСТВА ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ ПРОИЗВОДСТВА «LAMSISTEMS» Г. МИАЗ ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ

Волков И.И., Астапенко П.В., Крамаренко С.Ю.

*736 Главный центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора
Министерства обороны Российской Федерации,
Москва*

В рамках договора о научном сотрудничестве, нам было предоставлено 3 костюма «Lamsystems» для проведения испытаний «живучести» костюма. Мы провели изучение комфортности работы в различные временные промежутки. Для сравнения параметров изделия «Lamsystems», использовался принятый на снабжение в ВС РФ защитный костюм «Кварц-М». В инструкции к данному костюму указаны временные ограничения по непрерывной работе, которые составляют всего 3 часа. Для проведения индикации БС требуется 8 комплектов «Кварц-М» в сутки на одного человека. Работать в костюме крайне затруднительно из-за тяжелой маски, тяжело дышать, устают мышцы шеи, тепловой режим быстро нарушается. После 4 часов непрерывной работы начинает развиваться утомление. Бахилы шиты из медицинской клеенки и рвутся в первый день применения.

Изделие «Lamsystems» (полный костюм с защитной шлем-маской) вначале испытали на длительность и комфортное пребывание. Для этого испытуемый в первый день 6 часов, на следующий день 7 и на следующий день 8 часов находился в костюме не снимая его элементов, при этом производилась обычная работа на компьютере. Выяснилось, что первые шерстяные перчатки и перчатки особой прочности для работы в лаборатории не нужны. Одетое под костюм белье (входит в комплект) позволяет чувствовать себя комфортно как при работе в лаборатории (+26оС) так и на улице (0оС). Выяснив, что непрерывная работа в течение 8 часов не является критическим пределом для данного костюма (все зависит только от физиологических потребностей), на втором этапе проводили реальные работы по постановке ПЦР, ИФА и классических бактериологических методов в течение непрерывной работы 8 часов.

Костюм показал удобство при длительной работе в лаборатории. Не мешает выполнению мелких и точных манипуляций, позволяет вести переговоры, включая разговор по мобильному телефону. Непрерывная работа при невозможности выхода из зоны заражения, может увеличиться до 10-12 часов. Недостатками, которые легко устранимы, являются следующие:

- отсутствует клапан для использования фонендоскопа врачами-инфекционистами (устранено в ходе испытаний);



- нет внешнего кармана для ношения мелких вещей (телефон);
- внутренние шерстяные перчатки существенно мешают работе и их целесообразно использовать только на улице при отрицательных температурах.

Перед снятием костюм обрабатывался смоченным в дез.растворе полотенцем. При такой обработке промокание ткани костюма не наступает. Для удобства обработки применяли специальный коврик, любезно предоставленный производителями костюма. Подобная обработка костюма «Кварц-М» приводит к значительному промоканию ткани комбинезона, а бахилы сразу протекают. Более быстрым способом обработки костюма перед его снятием является орошение из специальных приборов или аппаратов. В лабораторных условиях мы провели пробную обработку надетого костюма из автоматки. При этом отмечались незначительные протечки в местах соединений молний. Однако при достаточном опыте снятия костюма протечек можно избежать придерживая защитные клапана молний.

Износостойкость проверялась путем замачивания всех частей костюма в дезинфицирующие растворы на строго регламентированное время, последующим высушиванием в течение 8-12 часов и автоклавированием (кроме шлем-маски) элементов костюма при различных показателях давления.

В первом цикле производилось замачивание костюма в растворе с активностью хлора адекватной для микроорганизмов 1-2 группы патогенности в течение 45 мин – 1 часа. Далее элементы костюма тщательно прополаскивались, костюм высушивался. Бахилы и комбинезон автоклавировались при 1 избыточной атмосфере в течение 1 часа. После полного высыхания всех частей костюма оценивали деформацию и усадку костюма, возможность присоединения шлем-маски. Таких циклов было проведено 10. Костюм не потерял своих рабочих свойств, изменился только цвет манжет рукавов, шлем маска по-прежнему плотно пристегивалась к комбинезону, бахилы незначительно деформировались в районе соединительного шва, молнии герметичны. Из незначительных недостатков следует отметить остаточный запах хлора и значительную помятость ткани костюма. После первого цикла костюм был проверен при обычной работе в лаборатории в течении 3-4 часов непрерывной работы. Помятость костюма легко устраняется обычной гладкой.

Второй цикл включал в себя более жесткие испытания: замачивание в 6% перекиси водорода в течение 45 мин – 1 час, тщательное прополаскивание и высушивания всех элементов костюма и затем автоклавирование при 1,5 избыточных атмосферах в течение часа бахил и комбинезона. Для предотвращения повреждения резиновых сапог, бахилы и комбинезон помещались в отдельные мешки-наволочки и затем в металлический бикс. После 3 повторов, наволочки рассыпались, изменений костюма не отмечалось. После 5 повтора – рассыпались манжеты рукавов комбинезона, все остальное оставалось в рабочем со-



стоянии. После 6 автоклавирования обнаружилось деформация обоих замков молнии они рассыпались на мелкие фрагменты.

Лабораторные испытания показали высокую надежность представленного костюма и его износостойкость. Элементы костюма выдержали 15 циклов замачивания в агрессивных жидкостях и 15 циклов автоклавирования.

Другой образец данного костюма применялся ежедневно (40 дней) при индикации БС на острове Матуа Курильской гряды. Показал хорошую износостойкость в экстремальных климатических условиях, на песчано-каменистой поверхности, при отборах проб в наземных и подземных фортификационных сооружениях. Не создавал препятствий при работе в кузове-фургоне лаборатории медицинской полевой.

РАБОТА ПОДВИЖНОЙ САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ ГРУППЫ НА ОСТРОВЕ МАТУА

Волков И.И.¹, Симаков В.В.², Рейнюк В.Л.³, Солдатов Е.А.³

*¹736 Главный центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора Министерства обороны Российской Федерации,
Москва,*

*²1029 Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора Министерства обороны Российской Федерации,
г. Владивосток,*

*³Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

В соответствии с решением Министра Обороны РФ в период 15 апреля по 15 июля 2016 г. состоялась экспедиция на остров Матуа Курильской гряды. Санитарно-гигиеническое и противоэпидемическое обеспечение личного состава экспедиции (всего 196 человек) предстояло выполнять в следующих условиях:

1. На значительном удалении от материка, с увеличенным плечом эвакуации, или при полном отсутствии возможности эвакуации;
2. При неблагоприятных климатических условиях и неустойчивой погоде, не исключающих возможность возникновения чрезвычайных ситуаций природного генеза (тайфуны, цунами, извержения вулкана, землетрясение, туман, снег, дождь, повышенный радиационный фон, электромагнитные аномалии);
3. Распределение сил и средств медицинской службы по нескольким направлениям деятельности (несколько разведывательно-поисковых групп, действующих самостоятельно);



4. Возможного наличия на острове оружия массового поражения (химического, бактериологического).

Подвижная санитарно-эпидемиологической группа (ПСЭГ) была сформирована в следующем составе: врач-эпидемиолог (старший группы) -, водитель-санитар ЛМП (нештатный дезинфектор, врач-бактериолог -, врач токсиколог-радиолог, врач военный медико-географ. ПСЭГ работала в тесном контакте со специалистами службы радиационной, химической и биологической защиты (РХБЗ).

Лаборатория медицинская полевая (ЛМП) на базе ЗИЛ-131 с прицепом 2ПН-2Н (1989 года выпуска) развернута на о. Матуа 21 мая 2016 г. в полном объеме, изолированно от полевого лагеря на расстоянии 150 метров.

Помимо штатного оснащения ЛМП, для работы в полевых условиях, имелись питательные среды и лабораторная посуда для исследования воды и диагностики кишечных инфекций. Набор лабораторных химических реактивов для исследования воды и почвы. Для отбора и доставки проб использовался комплект КПО-1М. Оснащение лаборатории позволило проводить различные микробиологические и санитарно-гигиенические исследования.

Единственным источником пресной воды на острове Матуа является снег. Вся система водоснабжения, построенная японскими военнослужащими, была направлена на сбор талой воды с вулкана Сарычева и ее длительное хранение. Этой воды хватало на многочисленный гарнизон в течение года. Экспедиции удалось найти остатки этой системы водоснабжения, многочисленные фильтры для механической очистки воды, мелкие и крупные резервуары для хранения, систему труб и насосов для переброски воды в разные участки острова. Об этом подробно описано в двух документальных фильмах («Секреты острова Матуа» – спецкорр газеты «Комсомольская Правда» А.Коц и Д.Штешина, «Обитаемый остров» корреспондента А.Лукьянова и съемочной группы канала ВЕСТИ-24) и восьми репортажах новостей канала ВЕСТИ-24 «Цитадель».

При проведении медицинской (санитарно-эпидемиологической) разведки с целью выбора наиболее оптимального и безопасного источника водоснабжения для нужд личного состава полевого лагеря, было проведено подробное обследование 8-ми, наиболее значимых для последующих экспедиций, источников децентрализованного водоснабжения с применением комплекса лабораторных методов исследования.

За 40 суток, проведенных на острове, исследовано 80 пробы воды. По физико-химическим показателям 1176 и 678 исследований по микробиологическим показателям, из них не соответствовали требованиям СанПиН по микробиологическим показателям 16 проб, по физико-химическим показателям 3 пробы. В среднем суточное суммарное водопотребление полевого лагеря соответствовало требованиям руководящих документов и составило не менее 4,7 тонн воды (более 20 литров на одного участника экспедиции).



С целью контроля за качеством обеззараживания воды в водовозке, проведено 86 экспресс исследования на содержание остаточного хлора в воде. По результатам исследований содержание остаточного хлора поддерживали в пределах нормы 0,8 мг\л.

Осуществлялся ежедневный контроль за помывкой личного состава, приготовления пищи, мытья столовой посуды. Проводились обязательные дезинфекционные мероприятия в бане, наружных туалетах. Запас средств для обеззараживания воды, профилактической дезинфекции, дератизации («Хлороцид», «Димакс-хлор», «Цифокс», «Симузан», «Мускачид», «Сульфохлоантин»-Д, «Циннами»-восковые брикеты) позволяли выполнять задачи в полном объеме. Оказывалась помощь руководству экспедиции по проблеме утилизации бытовых отходов в полевом лагере. Проводилась регулярная профилактическая дератизация, всего обработано отравленными приманками 0,95 га вокруг полевого лагеря.

Таким образом: при постоянном размещении на острове воинского контингента требуются специальные проектно-изыскательские работы и инженерные решения по обеспечению пресной водой личного состава на острове для питья и хозяйственно-бытовых нужд в течение всего года.

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ СЕПСИСА

Горелова В.Г., Омарова С.М., Меджидова А.Ш.

*Дагестанский государственный медицинский университет,
г. Махачкала*

Высокая летальность при бактериемии и сепсисе в значительной мере связана с изменением этиологической структуры сепсиса и преобладанием в настоящее время полирезистентных к антибиотикам возбудителей, что в определенной степени объясняет недостаточную эффективность антибактериальной терапии. Исходя из этого, к актуальным задачам здравоохранения также относятся поиски путей снижения заболеваемости и летальности населения от сепсиса и создание средств для проведения эффективной диагностики.

Раннее обнаружение микроба-возбудителя в сочетании с оптимальной антибактериальной терапией позволяет кардинально улучшить результаты лечения и значительно снизить летальность. Микробиологические исследования крови требуют обеспечения лабораторной службы страны стандартными высокоэффективными питательными средами. Однако исследователи сообщают о плохой оснащенности лабораторий питательными средами для посевов крови, что увеличивает срок постановки диагноза.



В связи с вышеизложенным, целью настоящих исследований явилась разработка и экспериментально-клиническое изучение двухфазной питательной среды для выделения гемокультуры.

Материалы и методы. Изучение качества разработанной двухфазной среды в моделированных опытах подтвердило результаты, полученные при изучении ее качества с помощью тест-штаммов. Так, среда обладает высокой чувствительностью к минимальной посевной дозе и обеспечивает рост микробов – основных возбудителей бактериемии и сепсиса – из максимальных разведений (10^{-6} и 10^{-7}). Разработанная среда опережает контрольную по скорости роста большинства микроорганизмов на 18-20 часов.

Результаты и обсуждение. На основании проведенных исследований отработаны показатели биологического контроля среды, включающие подбор тест-штаммов наиболее чувствительных (*S.pyogenes* Dick 1) и наиболее часто встречающихся в качестве возбудителей бактериемии и сепсиса (*S.aureus* ATCC № 25923, *S.epidermidis* ATCC 14990, *K.pneumoniae* № 51 и *P.aeruginosa* 27/99). Определена посевная доза в двухфазную среду 0,5 мл из 10^{-6} , что соответствует чувствительности среды 10^{-6} , скорость роста микроорганизмов – 18-20 ч.

Испытания готовой к употреблению коммерческой двухфазной среды на клиническом материале также показало ее преимущество по скорости роста и высеваемости гемокультур. Так, процент высеваемости гемокультур, довольно низкий по стране при использовании сред лабораторного приготовления, на разработанной двухфазной среде превысил контрольную в 2 раза. Скорость роста гемокультур, выделенных на разработанной среде, опережала контрольную на 18-20 часов. Перечень выделяемых микроорганизмов на разрабатываемой среде шире, чем на контрольной, на которой не были выделены стрептококки и бруцеллы.

Кроме того, испытываемая среда была оценена как более удобная в употреблении в сравнении с контрольной, требующей для своего изготовления в практических лабораториях больших трудовых и материальных затрат.

Таким образом, в результате обобщения данных, полученных на всех этапах исследований, впервые в нашей стране разработаны коммерческие среды, готовые к употреблению – жидкая и двухфазная, обладающие высокой чувствительностью, эффективностью и обеспечивающие выделение гемокультуры в более сжатые сроки в сравнении со средами лабораторного приготовления аналогичного назначения.

В мировой практике для выделения гемокультуры используют как жидкие, так и двухфазные среды.

Двухфазная среда имеет преимущество перед жидкой средой, т.к. последняя служит только для накопления биомассы, а для выделения гемокультуры требуется высеивание на чашечные плотные среды. Двухфазная среда одновременно накапливает культуру в жидкой фазе и обеспечивает ее рост на твердой фазе в



основном через 18-20 ч инкубации. Поэтому выделение гемокультуры с двухфазной среды, необходимое для постановки антибиотикограммы, опережает жидкую среду на 18-20 часов. Помимо этого, снижается вероятность контаминации посторонней микрофлорой при высевах, которые необходимо производить из жидкой среды.

Разработанная двухфазная питательная среда для накопления и выделения гемокультуры стандартна, так как изготавливается из гостированных питательных основ и ингредиентов, проходит контроль на всех этапах производства тест-штаммами основных возбудителей бактериемии и сепсиса. Среда в готовом к употреблению виде может быть изготовлена в условиях промышленного производства в количествах, необходимых для обеспечения нужд лабораторной службы страны, осуществляющей бактериологическое исследование крови.

Выводы. Клинические испытания разработанной двухфазной среды для выделения гемокультуры показали ее преимущества перед средой лабораторного приготовления как по срокам выделения, так и по проценту высеваемости гемокультур, что позволяет ускорить лабораторную диагностику бактериемии и сепсиса и своевременно проводить эффективную антибактериальную терапию. Предложена схема бактериологического исследования крови с использованием двухфазной среды, что позволяет сократить сроки постановки диагноза на 18-20 часов.

Разработанная двухфазная питательная среда для выделения гемокультуры стандартна, так как изготавливается с использованием ингредиентов, соответствующих ГОСТу, и тестируется с контрольными штаммами. Среда проста по составу, удобна в использовании, снижает риск инфицирования гемокультуры в процессе высева из среды, и может быть приготовлена в необходимых для лабораторной службы страны количествах.

СПЕКТР ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОГО СТАЦИОНАРА

Дворак С.И.^{1,2}, Гусев Д.А.¹, Суборова Т.Н.², Болехан В.Н.²

¹Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями,

²Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,

Санкт-Петербург

Введение. Больные ВИЧ-инфекцией в стадии вторичных заболеваний относятся к категории пациентов высокого риска развития бактериальных осложнений. Учитывая характер осложнений, рациональная антимикробная терапия должна быть основана на данных микробиологического мониторинга.



Цель. Провести анализ спектра возбудителей бактериальных осложнений у пациентов с ВИЧ-инфекцией, находящихся на лечении в специализированном стационаре по поводу прогрессирующего течения основного заболевания.

Материалы и методы. Бактериологическое исследование образцов биологического материала проводили классическими методами. Идентификацию бактерий осуществляли с помощью масс-спектрометра, чувствительность к антимикробным препаратам определяли с помощью диско-диффузионного метода. Результаты анализировали в программе WHONET 5.6.

Результаты и обсуждение. За 2016 г. из образцов биологического материала от больных ВИЧ-инфекцией и хроническими вирусными гепатитами с сопутствующими инфекционными осложнениями бактериальной природы был выделен 191 штамм бактерий, среди которых было 98 (51,3%) штаммов грамположительных и 93 (48,7%) изолята грамотрицательных бактерий. Наиболее часто выделялись штаммы *Staphylococcus aureus* (n=44; 23,0%), *Escherichia coli* (n=30; 15,7%), *Klebsiella pneumoniae* (n=26; 13,6%), *Enterococcus faecalis* (n=21; 11,0%), *Acinetobacter baumannii* (n=7; 3,7%), *Pseudomonas aeruginosa* (n=6; 3,1%). Кроме того, в развитии осложнений принимали участие *S. striatum*, *E. faecium*, *E. raffinosus*, коагулазоотрицательные стафилококки, относящиеся к пяти видам, представители рода *Streptococcus*, а также энтеробактерии *K. oxytoca*, *P. mirabilis*, *E. cloacae* и неферментирующие грамотрицательные бактерии (*Moraxella* sp., *Stenotrophomonas maltophilia*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*). Чувствительность к антибактериальным препаратам была связана с видовыми характеристиками возбудителей.

Таким образом, выявленный спектр микроорганизмов включал не только актуальных возбудителей бактериальных осложнений, но и редко встречающиеся виды, что может быть связано с выраженными нарушениями в иммунной системе вследствие прогрессирующего течения ВИЧ-инфекции. Несмотря на применение у этих больных высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ), неправильный выбор антибактериальных препаратов может привести к тяжелым последствиям и повысить риск летального исхода в результате развития бактериальных осложнений. Тщательный выбор антимикробных препаратов для рациональной терапии осложнений у данной категории пациентов может способствовать успешной терапии.

Выводы. 1. В специализированном стационаре по лечению ВИЧ-инфицированных пациентов необходимо проводить микробиологический мониторинг для оптимизации схем терапии тяжелых форм инфекционных осложнений и ограничения распространения антибиотикорезистентных штаммов.

2. Следует учитывать возможность развития инфекционных осложнений при участии редко встречающихся низковирулентных возбудителей.



СПОСОБ РАЗРАБОТКИ ПРОТИВОВИРУСНОЙ СУБСТАНЦИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГЕПАТИТА С

Дрозд М.С., Мартынова Д.В., Малышева З.В., Пустовалова Е.Г.

Дворец творчества «У Вознесенского моста»,

Санкт-Петербург

Проблема лечения вирусного гепатита С является крайне актуальной.

В нашем исследовании объектом исследования являются базидиальные грибы (класс Basidiomycetes), который включает в себя наибольшее количество известных грибов, продуцирующих биологически активные вещества (БАВ). На сегодня получены субстанции с лекарственными свойствами из нескольких десятков видов грибов, тогда как остальные остаются недостаточно исследованными в данном направлении. Вещества, обнаруженные в грибах, способны ингибировать вредоносных патогенов человека и животных, оказывать противоопухолевое действие. К числу базидиомицетов - продуцентов БАВ относятся представители различных субстратных групп. Это, прежде всего, ксилотрофные (дереворазрушающие) грибы, микоризообразователи (симбионты древесинных растений), а также подстилочные сапротрофы и капрофильные виды. В природе они встречаются в разнообразных эколого-географических условиях. Большинство шляпочных базидиомицетов достаточно хорошо культивируется, что открывает возможности для разработки биотехнологий получения БАВ из культурального фильтрата, мицелия (вегетативного тела) и плодовых тел (генеративные структуры) этих грибов. Учитывая тесные взаимоотношения грибов и растений, проявляющиеся на физиолого-биохимическом уровне, в настоящее время ведется поиск перспективных композиционных субстанций, обладающих противовирусной активностью.

Цель работы. Создание новой композиционной субстанции и противовирусной активностью на основе лекарственных грибов и лекарственных растений, разработка способа получения антивирусного компонента субстанции из базидиальных грибов для лечения гепатита С.

Перед нами стояли следующие задачи исследований:

- разработать способ получения отобранной антивирусной субстанции;
- получить опытные образцы биомассы продуцента и грибной субстанции;
- провести химическое изучение субстанции;
- получить опытные образцы композиционной субстанции;
- изучить противовирусные и другие антимикробные свойства композиционной субстанции *in vitro*.



Из большого числа изученных штаммов было отобрано 3 (*Agroclybe aegerita*, *Marasmius scorodoni*, *Pleurotus ostreatus*), которые по всем параметрам отвечали решению поставленной задачи. При этом результаты изучения остальных штаммов также представляют немалую ценность, так как дают представление о потенциальных возможностях использования базидиальных грибов в биотехнологических целях.

При разработке технологии получения субстанции грибного происхождения отобранные штаммы прошли детальное морфолого-культуральное и биохимическое исследование. Были изучены их питательные потребности, способность развиваться на средах с различными источниками углерода и азота. В результате этой работы установлено, что применение глюкозо-пептонной среды в большей степени способствуют интенсивному и ускоренному протеканию процессов метаболизма у отобранных штаммов базидиальных грибов, особенно при глубинном способе культивирования. Установлены оптимальные параметры биотехнологического цикла получения композиционной субстанции и получены опытные образцы такой субстанции.

Проведено всесторонне биохимическое изучение субстанции грибного происхождения, которое показало, что состав метаболитов, экстрагированных из мицелия базидиальных грибов, несколько различается у отобранных штаммов, как в качественном, так и в количественном отношении. Это обстоятельство было учтено при создании композиционной субстанции, обогащенной широким спектром биологически активных веществ.

В качестве растительной субстанции (компонент создаваемой композиционной противовирусной субстанции) был использован биоактивный комплекс, синтезированный из растительного сырья специалистами научно-производственной фирмы ОПТЭК. Данные биохимического исследования указывают на высокую биологическую активность и реакционную способность отобранной субстанции растительного происхождения. Препарат абсолютно не токсичен для человека, растворим в воде и хорошо совместим с субстанцией грибного происхождения. Состав способен сохранять свои физико-химические свойства в течение длительного времени без изменений.

Последовательная реализации программы работ позволила научно обосновать и технически осуществить получение композиционной субстанции в двух вариантах: №1 – на основе очищенных культуральных фильтратов 3 штаммов базидиальных грибов, №2 – то же с добавлением растительной субстанции. Получены опытные образцы биомассы продуцентов и субстанций с противовирусной активностью методом глубинного культивирования при стандартизированных условиях. Показана воспроизводимость биотехнологии получения созданной субстанции.



Результаты испытания полученной субстанции показали ее высокую эффективность в подавлении широкого спектра патогенных микроорганизмов. В серии экспериментов была доказана антифунгальная, антибактериальная и противовирусная активность полученной субстанции *in vitro*.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДОВ БИОИНФОРМАТИКИ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИМИКОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Жилинская Н.Т.^{1,2}, Базарнова Ю.Г.¹, Политаева Н.А.¹, Шлейкин А.Г.³

¹*Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,*

²*Научно-исследовательский институт онкологии имени Н.Н. Петрова,*

³*Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет
информационных технологий, механики и оптики,*

Санкт-Петербург

Проблема антибиотикорезистентности в настоящее время приобрела глобальный характер. Достаточно сказать, что сегодня не редкость MRSA, ванкомицинрезистентные энтерококки, карбапенемрезистентная синегнойная палочка, пенициллин-, макролид-, тетрациклинрезистентные пневмококки, пенициллин-, тетрациклин-, хлорамфениколрезистентные шигеллы, полирезистентные штаммы микобактерий туберкулеза, ВИЧ. Отмечается повсеместный рост панрезистентности, рост уровня нозокомиальных инфекций. Другая область – использование антимикробных средств, предназначенных для лечения инфекций у человека, в животноводстве, ветеринарии, сельском хозяйстве. Экологические проблемы: проникновение антимикробных препаратов, выделяемых людьми или животными, в грунтовые воды, пищевое сырье и продукты питания.

Грибковым инфекциям благоприятствуют инвазивные, хирургические, инструментальные вмешательства, обследование больных, внедрение в медицину новых материалов и конструкций для протезирования. Формированию резистентности к противогрибковым препаратам способствовали такие факторы, как внедрение в практику большого количества новых лекарств, их широкое применение, повышение этиологической роли грибов в ряде смешанных инфекций больничного и внебольничного характера. В отличие от бактерий, грибы являются эукариотами и механизмы действия антимикотиков принципиально отличаются от таковых антибактериальных средств. Мишени действия



и соответственно механизмы формирования резистентности существенно различаются в различных классах антимикотиков.

Современная фармакологическая наука прикладывает огромные усилия в решении проблемы резистентности к антимикотическим средствам. Одним из главных направлений является поиск новых молекул противогрибковых средств или модификация существующих препаратов. В этом контексте особое место занимает проблема поиска дополнительных методов оценки эффективности действия фунгицидных препаратов на морфофункциональное состояние клеток микроскопических грибов.

Материалы и методы. В качестве объектов исследований использовали следующие виды микроорганизмов: 1. Чистые культуры непатогенных штаммов микроорганизмов – продуцентов биотехнологических пищевых продуктов: дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, *Mycoderma vini*, *Rhodotorula gracilis*. 2. Сухие дрожжи штамма *Sacharomyces cerevisiae* DistilaMax® MW фирмы LallemandBiofuels & Distilled Spirits, предназначенные для производства солодового виски, с применением комплексных подкормок DistilaViteVM и DistilaViteGN. 3. Микроскопические плесневые грибы рода *Fusarium*, вызывающие сухую картофельную гниль.

Цитологическое исследование клеток дрожжей, плесневых грибов проводили с применением светооптических видеомикроскопов «Micros» (Австрия), «Nicon» (Япония). Морфометрические характеристики клеток (площадь, периметр, длина, ширина, количество), окрашенных 1% раствором метиленового синего, получали с применением программного обеспечения компьютерного анализатора изображений при увеличении в 1000 раз.

На основании данных компьютерного морфометрического анализа разработаны алгоритм и компьютерная программа для расчета значений биоинформационных характеристик клеток исследуемых микроорганизмов. Вычисляли следующие информационные характеристики клеток: H - информационная энтропия, характеризующая степень упорядоченности клетки как биосистемы; ее возрастание свидетельствует о дезорганизации механизмов регуляции структурно-функциональной целостности системы во времени и пространстве. H_{\max} - информационная емкость, характеризует биологическую систему как ничем не связанный набор элементов, утративших функциональную взаимосвязь и взаимообусловленность. R - коэффициент информационной избыточности, характеризующий способность системы противостоять воздействию внешних и внутренних факторов.

Результаты и обсуждение. Для изученных штаммов чистых культур дрожжей значения R (%) составили: *Saccharomyces cerevisiae* - 82,02; *Mycoderma vini* – 68,84; *Rhodotorula gracilis* – 81,12. Для исследованных клеток сухих дрожжей штамма *Sacharomyces scerevisiae* DistilaMax® MW, культивируемых на солодовом сусле с применением комплексных подкормок, значения R составили



97,6% – 97,8%. Без применения комплексных добавок значения R у дрожжевых клеток снижались и равнялись 96,9%. Для клеток грибов рода *Fusarium* выявленные высокие значения коэффициента избыточности R (99,40% - 99,69%) доказывают максимальную степень адаптации клеток грибов рода *Fusarium* к условиям их биоценоза с растительными клетками в процессе микробной контаминации клубней картофеля.

Выводы. Методы компьютерной морфометрии и биоинформатики могут быть рекомендованы для оценки морфофизиологического состояния и адапционно-приспособительных реакций клеток микроскопических грибов при изучении эффективности действия антимикотических препаратов.

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ БАКТЕРИЦИДНЫХ РЕЦИРКУЛЯТОРОВ ВОЗДУХА В СПАЛЬНЫХ ПОМЕЩЕНИЯХ КАЗАРМ

Жоголев К.Д.¹, Горенчук А.Н.², Жоголев С.Д.¹,
Аминев Р.М.¹, Сбойчаков В.Б.¹, Андреев В.А.¹, Клецко Л.И.¹,
Журкин М.А.¹, Котов С.С.², Удальцов О.Е.¹

¹Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,

²Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора
Западного Военного округа,
Санкт-Петербург

Цель работы. Определение эффективности применения ультрафиолетовых облучателей-рециркуляторов «Дезар-3» и фотоплазмокаталитических ультрафиолетовых рециркуляторов «Биострим Р120» для уменьшения микробной обсемененности в спальнях казарм снижения заболеваемости острыми болезнями органов дыхания (ОБОД).

Материалы и методы. Исследование проводилось в учебном центре, расположенном под Санкт-Петербургом с 9 февраля по 9 мая 2016 года. Для изучения эффективности рециркуляторов были определены четыре одинаковых спальных помещения (СП) площадью 556 м², кубатурой 1664 м³.

В СП №1 на 8-ми колоннах были установлены 8 приборов «Биострим Р120» на высоте 150 см от пола. Таким образом, на 1 прибор «Биострим Р120» пришлось 69,5 м² площади и 208 м³ объема спального помещения. В СП №1 размещалось 84 человека. Плотность размещения в нем составила 6,62 м²/чел, а объем воздуха – 19,81 м³/чел. С 9 февраля 2016 г. приборы работали постоянно круглосуточно в режиме средней (MED) скорости потока воздуха.



В СП №2 никаких очистителей воздуха не устанавливалось. В нем размещалось 82 человека. Плотность размещения в СП №2 составила 6,78 м²/чел, а объем воздуха – 20,29 м³/чел. По этим параметрам СП №2 было аналогичным СП №1 и служило контролем для определения эффективности приборов «Биострим Р120».

В СП №3, на 8-ми колоннах и стенах были установлены 10 приборов «Дезар-3» (нижняя часть корпуса на высоте 140 см от пола). Таким образом, на 1 прибор пришлось 55,6 м² площади и 166,4 м³ объема спального помещения. В СП №3 размещалось 128 человек. Плотность размещения в нем составила 4,34 м²/чел, а объем воздуха – 13,0 м³/чел. Приборы включались дежурной службой только в период нахождения людей в помещении.

В СП №4 очистители воздуха не устанавливались. В нем размещалось 126 человек. Плотность размещения в СП №4 составила 4,41 м²/чел, а объем воздуха – 13,21 м³/чел. Таким образом, по условиям размещения СП №4 было схожим с СП №3 и служило контролем для определения эффективности приборов «Дезар-3».

Взятие проб воздуха осуществляли с помощью пробоотборника ПУ-1Б в 6 сходных для всех 4-х помещений точках в период отбоя и в период подъема. Посев материала осуществляли на чашки Петри с мясо-пептонным агаром (для определения общего микробного числа) и с желточно-солевым агаром (для выделения золотистого стафилококка).

На протяжении 3-х месяцев (с 9 февраля по 9 мая 2016 года) вели учет заболеваемости острыми болезнями органов дыхания: пневмонией, острым бронхитом, острым тонзиллитом, острыми респираторными инфекциями (включая грипп) по спальным помещениям.

Результаты. Применение 8 приборов «Биострим Р120» в СП №1 снизило среднюю микробную обсемененность воздуха в нем в период отбоя в 2,8 раза (с 1825 до 652 КОЕ/м³), а в период подъема в 6,8 раза (с 5067 до 743 КОЕ/м³) по сравнению с показателями до установки приборов. При этом золотистый стафилококк в воздухе, определяемый до установки приборов в концентрации 1,67 КОЕ/м³ при отбое и 11,67 КОЕ/м³ при подъеме, перестал определяться. Параллельно проведенные исследования микробной обсемененности воздуха в контрольном СП №2 показали, что средняя микробная обсемененность воздуха в период отбоя в нем (1323 КОЕ/м³), была выше, чем в СП №1 (652 КОЕ/м³) в 2,03 раза, а в период подъема – выше в 3,1 раза (в СП №2 - 2312 КОЕ/м³, в СП №1 - 743 КОЕ/м³). При этом золотистый стафилококк в воздухе СП №2 продолжал определяться в средней концентрации 3,33 КОЕ/м³.



После установки 10 приборов Дезар-3 в СП №3 средняя микробная обсемененность воздуха в нем в период отбоя и подъема уменьшилась соответственно в 2,51 раза (с 2183 до 872 КОЕ/м³) и в 2,02 раза (с 5728 до 2842 КОЕ/м³) по сравнению с показателями до установки рециркуляторов. При этом золотистый стафилококк в воздухе, определяемый до установки приборов в концентрации 3,33 КОЕ/м³ при отбое и 8,33 КОЕ/м³ при подъеме, перестал определяться. Параллельно проведенные исследования микробной обсемененности воздуха в контрольном СП №4 показали, что среднее общее микробное число в нем (1480 КОЕ/м³) было выше, чем в СП №3 (872 КОЕ/м³) в период отбоя в 1,7 раза, а в период подъема – выше в 2,4 раза (в СП №4 - 6750 КОЕ/м³, в СП №3 - 2842 КОЕ/м³). При этом золотистый стафилококк в воздухе СП №4 (контроль) продолжал определяться в средней концентрации 1,67 КОЕ/м³.

В период 3-х месячного функционирования приборов Биострим Р120 (с 9.02 по 9.05.2016 г.) уровень заболеваемости ОРЗ, острым тонзиллитом и острым бронхитом лиц, размещенных в СП №1, где были установлены 8 приборов Биострим Р120, был ниже соответственно в 2,23 раза, в 2,05 раза и в 2,56 раза, чем в контрольной группе, размещенной в СП №2. Случаев пневмоний в СП №1 не было в отличие от СП №2, в котором за 3 месяца наблюдения был зарегистрирован 1 случай пневмонии. Уровень заболеваемости всеми ОБОД лиц в СП №1 был в 2,31 раза ниже, чем лиц в СП №2 ($p < 0,05$). Таким образом, эпидемиологическая эффективность применения приборов «Биострим Р120» в целом за группу ОБОД составила 56,6%.

В период 3-х месячного функционирования приборов Дезар-3 (с 9.02 по 9.05.2016 г.) уровень заболеваемости ОРЗ и острым бронхитом лиц, размещенных в СП №3, где были установлены 10 приборов Дезар-3, был ниже соответственно в 1,6 раза и в 2,4 раза, чем в контрольной группе, размещенной в СП №4. Число случаев пневмонии (по одному) и острого тонзиллита (по 4) было одинаковым в обоих спальнях помещений. Уровень заболеваемости всеми ОБОД лиц в СП №3 оказался в 1,61 раза ниже, чем лиц в контрольном СП №4 ($p < 0,05$). Таким образом, эпидемиологическая эффективность применения приборов «Дезар-3» в целом за группу ОБОД составила 37,9%.

Заключение. Установлено, что оба типа рециркуляторов воздуха существенно снижают микробную обсемененность воздуха в спальнях помещениях казарм при достаточном их количестве в расчете на объем помещения: 1 прибор «Биострим Р120» рассчитан на обеззараживание 120 м³ воздуха в помещении, а 1 прибор «Дезар-3» - 100 м³ воздуха. Приборы «Биострим Р120» оказались более эффективными. Они снижали микробную обсемененность воздуха в 2,0-6,8 раз, а приборы «Дезар-3» - в 1,7-2,5 раза. Оба типа приборов эффективно воздействовали на патогенную флору, в частности на золотистый стафилококк.



Приборы «Биострим Р120» более эффективно снижали заболеваемость острыми болезнями органов дыхания, чем приборы «Дезар-3». Их эпидемиологическая эффективность составила соответственно 56,6% и 37,9%.

Бактерицидными рециркуляторами воздуха в первую очередь следует оснащать спальные помещения казарм с повышенной скученностью размещения личного состава и плохой вентиляцией, особенно в период приема молодого пополнения, а также нештатные изоляторы (для предупреждения перекрестного инфицирования).

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ПНЕВМОНИЙ У ВОЕННОСЛУЖАЩИХ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИМ, МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИМ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

**Жоголев К.Д.¹, Сбойчаков В.Б.¹, Жоголев С.Д.¹, Журкин М.А.¹,
Рубова С.Р.², Харитонов М.А.¹, Аминев Р.М.¹, Клецко Л.И.¹,
Андреев В.А.¹, Жоголев Д.К.¹, Котов С.С.², Горенчук А.Н.²**

¹*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,*

²*Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора
Западного Военного округа,
Санкт-Петербург*

Цель исследования. Определить частоту встречаемости агентов различной природы при внебольничных пневмониях у военнослужащих различными методами.

Материалы и методы. Помимо классического бактериологического метода, с помощью которого в мокроте определяются агенты только бактериальной природы, применяли молекулярно-генетический метод – полимеразную цепную реакцию (ПЦР), позволяющую выявлять в плазме крови и мокроте фрагменты ДНК/РНК (антигены) классических и атипичных возбудителей (микоплазм, хламидий, легионелл), а также агентов вирусной природы (аденовирусов, РС-вирусов, вирусов гриппа А и В). Концентрацию антител к респираторным вирусам и атипичным возбудителям определяли с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) сыворотки крови. Иммунохроматографические экспресс-тесты применяли для выявления вирусных агентов из мокроты. Обследовано 150 больных внебольничной пневмонией военнослужащих по призыву в возрасте 18-22 года.



Результаты. По обобщенным данным из возбудителей бактериальной природы преобладали пневмококки, обнаруженные у 24,1% больных. Гемофильная палочка выявлена у 8,3%, золотистый стафилококк – у 6,5%, клебсиелла – у 3,7% больных. Из атипичных возбудителей часто выявлялись микоплазмы – в 21,3% случаев и в 2 раза реже – хламидии – в 10,2% случаев. Также были выявлены возбудители нозокомиальной инфекции: синегнойная палочка – в 7,4%, ацинетобактеры – в 5,6% случаев. Из агентов вирусной природы преобладали аденовирусы, определяемые у 51,9% больных. РС-вирусы были обнаружены в 34,3%, вирус гриппа А – в 16,7%, вирус гриппа В – в 2,8% случаев. Подавляющее большинство пневмоний (75%) имели вирусно-бактериальную этиологию.

Заключение. Применение ПЦР-диагностики и иммуноферментного анализа наряду с классическим бактериологическим методом позволяет значительно увеличить полноту выявляемости возбудителей пневмоний, определять помимо классических агентов бактериальной природы атипичные возбудители и вирусы. С помощью этих методик установлено преимущественно вирусно-бактериальная природа внебольничных пневмоний у военнослужащих, что необходимо учитывать как при лечении, назначая в этих случаях наряду с антибиотиками противовирусные средства, так и при медикаментозной профилактике (вместе с пневмококковой вакциной следует применять противогриппозную вакцину, противовирусные и иммуностропные средства).

АНАЛИЗ МНОГОЛЕТНЕЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ВНЕБОЛЬНИЧНЫМИ ПНЕВМОНИЯМИ ВОЕННОСЛУЖАЩИХ ПО ПРИЗЫВУ

**Жоголев С.Д.¹, Аминев Р.М.¹, Огарков П.И.¹,
Жоголев К.Д.¹, Сбойчаков В.Б.¹, Журкин М.А.¹, Жоголев Д.К.¹,
Горенчук А.Н.², Котов С.С.², Удальцов О.Е.¹**

¹Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,

²Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора

Западного Военного округа,

Санкт-Петербург

Значительную часть всей заболеваемости военнослужащих по призыву составляют острые болезни органов дыхания (ОБОД): острый синусит, ОРЗ (включая грипп), острый тонзиллит, острый бронхит, «острые респираторные инфекции нижних дыхательных путей неуточненные» и пневмонии.



В анализируемый период (2010-2015 гг.) доля ОБОД составляла 44,1-50,9%. Доля пневмоний в структуре ОБОД ежегодно снижалась с 12,6% в 2010 г до 2,6% в 2015 г., а в структуре всех болезней – с 5,56% до 1,3%.

После подъема заболеваемости внебольничными пневмониями военнослужащих по призыву с 2008 по 2010 гг. в дальнейшие годы регистрировалось последовательное снижение ее уровня. Средний темп снижения заболеваемости составил 12,4% в год. Заболеваемость пневмонией снизилась с 69,6‰ в 2010 г. до 29,9‰ в 2015 г., т.е. в 2,3 раза. Однако этот уровень заболеваемости (29,9%) все еще очень высок в сравнении с заболеваемостью офицерского состава (5,5‰) и населения (8,8‰) в настоящее время.

Снижение заболеваемости пневмониями в период с 2010 по 2015 гг. произошло во всех 4-х округах. В Восточном военном округе уровень заболеваемости снизился в 3 раза (со 100‰ до 33,5‰), в Центральном военном округе - в 3,2 раза (с 64,2‰ до 20,0‰), в Южном военном округе - в 3,1 раза (с 86,5‰ до 27,7‰), в Западном военном округе - в 2 раза (с 43,3‰ до 21,9‰). По средне-многолетним данным за 6 лет наибольшая заболеваемость пневмониями военнослужащих по призыву была ВВО (51,6‰) и ЦВО (51,3‰). Несколько ниже была заболеваемость в ЮВО (45,1‰), а наименьший уровень средне-многолетней заболеваемости отмечен в ЗВО (35,3‰).

Помимо значительного уровня заболеваемости актуальность пневмоний определяется наличием летальных исходов. В 2015 г. зарегистрировано 2 летальных исхода от пневмонии. В предыдущие 5 лет ежегодно регистрировалось 3-7 летальных случаев.

Проблема пневмоний в настоящее время находится под пристальным вниманием командования. Во многом благодаря тесному взаимодействию медицинской службы с командованием удалось эффективно проводить санитарно-противоэпидемические (профилактические) мероприятия и достичь снижения заболеваемости пневмониями. В последние годы улучшились условия размещения личного состава (уменьшилась скученность размещения, стал реже нарушаться температурный режим в спальнях помещений), улучшилось вещевое обеспечение (были разработаны и поставлены в войска комфортное обмундирование и утепленная обувь). Усилилась работа по активному выявлению больных респираторными инфекциями в подразделениях, недопущению перенесения ОРЗ «на ногах». Благодаря раннему началу лечения стали превалировать легкие формы респираторной инфекции, уменьшился риск утяжеления заболеваний и развития пневмонии. Возрастание заболеваемости ОРЗ военнослужащих по призыву в ВС РФ в 2,2 раза в период с 2010 по 2015 гг. связано с усилением активного выявления больных ОРЗ, их учетом и лечением в стационарных условиях, а также с тем, что многие поражения респираторного тракта стали заканчиваться на этапе ОРЗ, не развившись в пневмонию. Если в 2010 г. на 1 случай пневмонии приходилось 5 случаев ОРЗ, то в 2015 году - 25 случаев ОРЗ.



АПРОБАЦИЯ 13-ВАЛЕНТНОЙ ПНЕВМОКОККОВОЙ КОНЬЮГИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ У ВОЕННОСЛУЖАЩИХ

Жоголев С.Д.¹, Жоголев К.Д.¹, Аминев Р.М.¹,
Сбойчаков В.Б.¹, Клецко Л.И.¹, Котов С.С.²,
Горенчук А.Н.², Журкин М.А.¹, Удальцов О.Е.¹

¹Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,

²Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора
Западного Военного округа,
Санкт-Петербург

С 2000 года для профилактики внебольничных пневмоний в войсках применяется пневмококковая полисахаридная вакцина 23-валентная (ППВ23) «Пневмо 23», выпускаемая фирмой «Санофи Пастер», Франция, лицензированная в России в 1999 г. В настоящее время согласно приказа Минздрава России № 125н от 21.03.2014 г. вакцинация против пневмококковой инфекции должна осуществляться призывникам перед призывом в ВС.

В зарубежных странах все большее распространение получает 13-валентная пневмококковая конъюгированная вакцина (ПКВ13) «Превенар 13», выпускаемая фирмой «Пфайзер», США. На территории РФ «Превенар 13» разрешена к применению с 2012 года и зарекомендовала себя более эффективной по сравнению с «Пневмо 23». Для детей до 2-х лет она особенно важна, так как «Пневмо 23» у детей раннего возраста не способна формировать антипневмококковый иммунитет в отличие от конъюгированной вакцины. Вакцина «Превенар 13» представляется перспективной для профилактики пневмоний у военнослужащих.

Вакцина «Превенар 13» содержит капсулярные полисахариды 13 серотипов пневмококка: 1, 3, 4, 5, 6А, 6В, 7F, 9V, 14, 18С, 19А, 19F и 23F, индивидуально конъюгированные с дифтерийным белком CRM197 и адсорбированные на алюминия фосфате. Вакцина включает до 90% серотипов, наиболее часто вызывающих пневмококковые бактериемию, сепсис, менингит, пневмонию, острый средний отит и др. Конъюгированная адсорбированная вакцина «Превенар 13» более иммуногенна и вызывает более прочный иммунитет, чем «Пневмо 23». Она формирует коллективный иммунитет, препятствующий циркуляции пневмококков в организованных коллективах.

В РФ в соответствии с рекомендациями ВОЗ и Европейской медицинской ассоциации (ЕМА), а также в соответствии с решением Междисциплинарного



совета экспертов «Современные подходы к вакцинопрофилактике у взрослых и пациентов групп риска» (2012) и с Федеральными клиническими рекомендациями «Вакцинопрофилактика пневмококковой инфекции» (2015) вакцинация ПКВ13 рекомендована всем взрослым лицам, достигшим возраста 50 лет, и лицам групп риска (включая организованные коллективы, такие как армейские), причем вакцина ПКВ13 вводится первой с возможной последующей ревакцинацией ППВ23 с интервалом не менее 8 недель.

Цель работы. Определить эпидемиологическую эффективность 13-валентной конъюгированной вакцины «Превенар 13» для профилактики внебольничных пневмоний у военнослужащих.

Материалы и методы. Нами в конце ноября 2015 года впервые в ВС осуществлена вакцинация 124 новобранцев одного из подразделений учебного центра вакциной «Превенар 13» и изучена ее эпидемиологическая эффективность в сравнении с вакциной «Пневмо 23», которой были вакцинированы 122 военнослужащих по призыву другого подразделения. Возрастной состав (18-22 года) и условия службы и быта личного состава обоих подразделений были одинаковы.

Результаты. В обеих группах вакцинированных частота развития общих и местных побочных реакций не превышала 3-4%.

После вакцинации за 3 месяца наблюдения в группе военнослужащих, вакцинированных «Превенар 13», заболеваемость острыми болезнями органов дыхания была в 1,4 раза меньше, чем среди вакцинированных «Пневмо 23» ($p < 0,001$): суммарная заболеваемость ОРЗ и острыми бронхитами в 1,2 раза меньше, а острыми тонзиллитами – в 3,4 раза меньше. Также среди вакцинированных «Превенар 13» не было ни одного заболевшего пневмонией, тогда как среди вакцинированных «Пневмо 23» возникло 3 случая пневмонии.

Заключение. Таким образом, пневмококковая конъюгированная вакцина «Превенар 13» более эффективно снижала заболеваемость пневмонией и другими острыми болезнями органов дыхания у военнослужащих по призыву, чем полисахаридная вакцина «Пневмо 23». Считаем целесообразным вакцинировать призывников за месяц до призыва вакциной «Превенар 13», а в войсках при необходимости по эпидемическим показаниям применять вакцину «Пневмо 23». Военнослужащих, не привитых пневмококковой вакциной перед призывом в ВС, следует первично вакцинировать конъюгированной вакциной «Превенар 13».

Организация проведения вакцинации перед призывом в ВС против пневмококковой инфекции (а также против гриппа, менингококковой инфекции и ветряной оспы) является примером организационно-методического сотрудничества военного и гражданского здравоохранения.



ПОРИСТЫЕ МИКРОФИЛЬТРАЦИОННЫЕ МЕМБРАНЫ И БЫСТРЫЕ ТЕСТЫ В САНИТАРНО-ВИРУСОЛОГИЧЕСКОМ КОНТРОЛЕ ВОДЫ

Змеева Т.А.¹, Малышев В.В.¹, Сбойчаков В.Б.¹, Котов С.С.²

¹Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,

²985 Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора,
Санкт-Петербург

Актуальность острых кишечных вирусных инфекций, возбудители которых передаются преимущественно водным путем, не снижается в последние годы.

В 2015 году доля острых кишечных вирусных инфекций в структуре острых кишечных инфекций установленной этиологии по данным Роспотребнадзора достигала 75%. Для решения задач безопасного водопользования постоянно совершенствуются санитарно-вирусологические методы исследования воды.

Цель нашего исследования состояла в изучении эффективности пробоподготовки воды и получение элюатов для проведения вирусных контаминанты в объектах окружающей среды.

Изучали эффективность концентрирования ротавирусов и аденовирусов в воде для микрофильтрационных мембран из полиэфирсульфона, смеси эфиров целлюлозы, полиамида, и экспериментальной мембраны с положительным зарядом (K+). Фильтрацию проводили с использованием аппарата для фильтрации воды для вирусологических исследований, при этом применяли различные насосы для напорной и вакуумной фильтрации.

Элюаты исследовали на РНК и антигены ротавирусов, ДНК и антигены аденовирусов методами полимеразной цепной реакции (ПЦР), иммуноферментного анализа (ИФА), иммунохроматографического анализа (ИХА) и в реакции агглютинации латекса (РАЛ). Использование экспериментальной капроновой мембраны с положительным зарядом и вакуумной фильтрации позволило получить положительные результаты исследования маркеров в элюатах воды в РАЛ.

Таким образом, использование инновационных микрофильтрационных фильтрующих материалов и вакуумной фильтрации позволило получить концентрацию вирусов из воды большую, более чем на один порядок, по сравнению с концентрацией вирусов, полученной на метод напорной фильтрации воды. Полученные результаты исследований позволили применить экспресс-тесты для санитарно-вирусологического контроля воды и расширить возможности использования простых методов при определении вирусных маркеров в воде, что является несомненно новым в экспресс-диагностике и оценке качества воды в полевых условиях.



ПРИМЕНЕНИЕ ИННОВАЦИОННЫХ МЕМБРАННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ И САНИТАРНО-ВИРУСОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Змеева Т.А., Малышев В.В., Бокарев М.А.
*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Загрязнение бактериальными и вирусными контаминантами источников водоснабжения носит повсеместный характер. Вопросы, требующие внимания при проведении эпидемиологического обследования очагов острых кишечных инфекций с предположительно водным путем передачи: отсутствие достоверной корреляционной связи заболеваемости ОКИ с обнаружением санитарно-показательных микроорганизмов в пробах воды; влияние химических факторов водных объектов и сопутствующей микрофлоры на санитарно-показательные микроорганизмы; более длительная, чем у бактерий, выживаемость вирусов в водных объектах окружающей среды; большая устойчивость кишечных вирусов к дезинфектантам; невозможность оперативного обнаружения вирусных патогенов классическими методами, в итоге анализ таких результатов носит ретроспективный характер; многие вирусы не культивируются или трудно культивируются на культурах клеток. Значительную роль для достоверности и эффективности исследований санитарно-микробиологического и санитарно-вирусологического контроля воды играет этап пробоподготовки, при этом концентрирование вирусных агентов требует проведения пробоподготовки больших объемов воды (10л и более). Сегодня возрастают возможности концентрирования бактериальных и вирусных контаминантов воды при помощи мембранных технологий.

Цель исследования состояла в повышении эффективности методов санитарно-микробиологического и санитарно-вирусологического контроля воды с использованием современных мембранных технологий.

Задачи. Оценить эффективность различных фильтрующих мембран для пробоподготовки воды и изучения концентрирования бактерий в режиме микрофльтрации; изучить эффективность пробоподготовки и детекции возбудителей острых кишечных вирусных инфекций и (или) их маркеров в водных объектах окружающей среды с использованием различных фильтру-



ющих мембран в режиме микрофильтрации. Исследования проводили на модели кишечной палочки *E.coli* M17-02 и ротавирусов (пул экстрактов антиген положительных фекалий больных острой кишечной инфекцией). Бактериологическую обсемененность проб воды определяли бактериологическим посевом способом мембранной фильтрации. Для детекции вирусных маркеров использовали следующие методы: ОТ-ПЦР в режиме реального времени, иммуноферментный анализ, иммунохроматографический метод, реакцию агглютинации латекса. Для подсчета бактерий в объеме пробы воды применяются фильтрующие мембраны с размером пор > 100 нм (в соответствии со значениями размеров отделяемых частиц в барометрических процессах). Кишечные вирусы находятся в диапазоне 20-100 нм, что соответствует ультрафильтрационным технологиям. Для вирусов высокоэффективны ультрафильтрационные мембраны с размером пор < 100 нм, однако они обладают низкой производительностью. Нами практически было показано, что при маленьких размерах пор фильтрация на кишечные вирусы большого объема воды (10 литров) занимает несколько суток. Эффективная производительность отмечается только у мембран с размером пор > 200 нм.

Опыт применения пористых фильтрующих мембран с размером пор 200 нм из различного сырья, на основе: полиэфирсульфона, смеси эфиров целлюлозы, полиамида, капрона с положительным зарядом (экспериментальный материал), показал, что пористые микрофильтрационные мембраны хорошо удерживают вирусные частицы, обладая высоким потоком и большой производительностью. Наибольшая эффективность концентрирования кишечных вирусов нами получена на микрофильтрационных капроновых экспериментальных мембранах с положительным зарядом. При оценке эффективности фильтрующих мембран в отношении подсчета бактерий из материалов: ацетата целлюлозы; нитрата целлюлозы; смеси эфиров целлюлозы; полиамида, наибольший «процент извлечения» получен при фильтрации через мембраны при использовании полиамидных и нитратцеллюлозных мембран. Высокий «процент извлекаемости» независимо от посевной дозы наблюдался у нитратцеллюлозных мембран.

Таким образом, существующие системы водоподготовки, водоочистки и обеззараживания не позволяют полностью исключить загрязнение поверхностной, подземной, питьевой воды кишечными бактериями и вирусами. В условиях увеличения микробной и вирусной нагрузки на водные объекты окружающей среды крайне необходимыми являются инновационные методы мембранной очистки воды и кроме того, широкое использование фильтрационных мембран в пробоподготовке и детекции указанных патогенов.



ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВОГО ВЕЩЕСТВА И БАКТЕРИЙ НА ОБРАЗОВАНИЕ МОЧЕВЫХ КАМНЕЙ

Изатулина А.Р.¹, Николаев А.М.¹, Франк-Каменецкая О.В.¹,
Кузьмина М.А.¹, Малышев В.В.²

¹Санкт-Петербургский государственный университет,

²Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербурге

Ухудшение экологической обстановки, особенно в крупных промышленных мегаполисах, приводит к постоянному росту заболеваний, связанных с камнеобразованием в организме человека и животных. Средний возраст людей, страдающих этими заболеваниями, уменьшается. В связи с этим, за последние годы интерес к изучению механизмов кристаллизации минеральных фаз в живых организмах существенно возрос. Существенный прогресс в изучении закономерностей формирования камней в организме человека и животных намечается в результате модельных экспериментов по кристаллизации их аналогов, особенно при участии в этом процессе органических веществ и, в частности, бактерий. Нами были проведены модельные эксперименты по синтезу основных фаз почечных камней при участии патогенов, которые могут присутствовать в мочевой системе человека при воспалительных процессах: (кишечная палочка (*Escherichia coli* K-12), синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853), Клебсиелла (*Klebsiella pneumoniae* 4140), золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus* 474-ВПХ). Биомиметические синтезы проводили методом осаждения в изотермических условиях в системах, моделирующих состав мочи человека по неорганическим компонентам в питательных средах (МХС и МПБ).

Проведенное экспериментальное исследование показало, что присутствие питательных сред и бактерий способствует изменению величины pH растворов и существенно влияет на фазовый состав осадков. Изменение величины pH раствора в процессе биомиметического синтеза, обусловленное как процессом кристаллизации различных фаз, так и дополнительным влиянием добавления белковой среды и всех видов использованных бактерий, происходит разнонаправленно. Уменьшение величины pH можно объяснить выпадением в осадок фосфатов, увеличение в системах с бактериями – влиянием продуктов метаболизма. В оксалатной системе добавка органического вещества и патогенов увеличивает количество выпадающих оксалатов и стабилизирует двуводный оксалат кальция – уэделлит. В фосфатной – смещает



границы кристаллизации струвита, брушита и апатита. Границы кристаллизации струвита и апатита смещаются в более кислую область, а брушита – в более щелочную.

Результаты, полученные в работе, могут использоваться для создания биотехнологий предотвращения камнеобразованию, а также для созданий биоматериалов медицинского назначения.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (17-55-80051 Brics_a) и Санкт-Петербургского государственного университета (проект 3.38.243.2015). Исследования проведены с использованием оборудования Ресурсного Центра СПбГУ «Рентгенодифракционные методы исследования».

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПАТЕНТА ПОЛУЧЕНИЯ ГЕМОКУЛЬТУР ПРИ ДИАГНОСТИКЕ ИНФЕКЦИИ КРОВотоКА

**Каргальцева Н.М.¹, Кочеровец В.И.³, Борисова О.Ю.⁴,
Сапронова Е.В.², Еденюк Е.А.²**

¹Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,

*²Межрайонная клинико-диагностическая бактериологическая
лаборатория при поликлинике №75,
Санкт-Петербург,*

*³Первый Московский государственный медицинский университет
имени И.М. Сеченова,*

*⁴Московский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского,
Москва*

Диагностика инфекции кровотока считается наиболее трудоемкой и малоэффективной микробиологической техникой. Потребность в проведении подобных исследований велика, особенно у амбулаторных пациентов.

Поэтому, цель работы – разработать ускоренный и одновременно эффективный способ диагностики бактериемии и фунгемии. Данный метод был получен и оформлен как патент «Способ диагностики бактериемии» № 2098486 от 1997 года и практически применен на амбулаторных пациентах с целью диагностики инфекции в крови.

Было обследовано 270 амбулаторных пациентов с различными заболеваниями: кожи и мягких тканей (38,7%), верхних и нижних дыхательных путей и лор-органов (32,4%), ротовой полости (16,7%), мочевыводящих и половых путей (8,3%) и разные (3,9%) и с наиболее частыми клиническими симптомами:



субфебрильная температура тела (49,0%), озноб (53,9%), хронические воспалительные состояния верхних дыхательных путей (63,7%), гнойничковый характер поражения кожи (72,1%) и нестабильный стул (53,9%).

Согласно разработанному патенту в качестве посевного материала использовали лейкоцитарный слой крови, который наносили на 5% сердечно-мозговой кровяной агар. Чашки с посевным материалом культивировали в аэробных, микроаэрофильных и анаэробных условиях.

Было проведено 324 посева крови амбулаторных пациентов и получена гемокультура в 55,2% случаев. Микроорганизмы выделяли из крови при клинических симптомах: субфебрилитете (53,1%), ознобе (62,5%), заболеваниях верхних дыхательных путей (62,5%), гнойничковых поражениях кожи (63,3%) и неустойчивом стуле (62,5%). Выделенные гемокультуры содержали 244 штамма микроорганизмов. Выделенные микроорганизмы относились к бактериям и грибам (97,5% и 2,5%, соответственно). Соотношение выделенных бактерий и грибов внутри группы с определенным клиническим симптомом различались и характеризовались следующим образом: субфебрилитет (70,4% и 29,6%, соответственно), озноб (73,9% и 26,1%, соответственно), хронические заболевания верхних дыхательных путей (72,0% и 28,0%, соответственно), гнойничковые поражения кожи (68,1% и 31,9%, соответственно) и нестабильный стул (62,5% и 37,5%, соответственно).

Патентный метод бактериологического исследования крови при диагностике инфекции кровотока позволяет ускорить получения гемокультуры и значительно повысить эффективность лабораторной диагностики инфекции в крови.

РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ С ПОЗИЦИЙ БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Кафтырева Л.А.

*Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,
Северо-Западный государственный медицинский университет
имени И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург*

Доступность полноценного питания и безопасных ПП является правом каждого человека в любой стране. Резистентность к антимикробным препаратам (АМП) бактерий – возбудителей различных инфекционных заболеваний,



является глобально нарастающей проблемой здравоохранения. Она тесно связана с проблемой безопасности пищевых продуктов (ПП). АМП широко и, нередко, неправильно применяются у сельскохозяйственных животных, в птицеводстве (не только при лечении, но также в качестве стимуляторов роста и профилактики болезней). В некоторых странах масштабы применения АМП у животных превышают масштабы их использования в медицине. Это приводит к серьезным последствиям для здравоохранения, так как резистентные к АМП возбудители инфекционных заболеваний могут колонизировать желудочно-кишечный тракт человека, передаваться от животных к человеку через пищевую цепь.

Глобализация торговли ПП приводит к быстрому распространению устойчивых к АМП бактерий. Примерами служат многократно документированные пищевые вспышки, вызванные сальмонеллами, кампилобактериями, эшерихиями и энтерококками, резистентными к АМП, при загрязнении ПП животного и растительного происхождения. Нередко ПП контаминированы возбудителями, резистентными к препаратам выбора для лечения тяжелых инфекций человека. Применение фторхинолонов у сельскохозяйственных животных привело к появлению соответствующей устойчивости в штаммах сальмонелл и кампилобактеров (возбудителей ОКИ у человека). При заболеваниях, обусловленных полирезистентными штаммами *S. Typhimurium* фаготипа 104, отмечена высокая частота госпитализации и высокий риск смертельного исхода по сравнению с заболеваниями, вызванными чувствительными бактериями. Резистентные к макролидам кампилобактерии часто вызывали инвазивные формы инфекции и летальные исходы. Масштабы применения АМП в рыбоводстве весьма значительные. В ряде стран АМП используют в борьбе с болезнями растений. Есть данные о том, что носительство *E. coli*, резистентных к тетрациклину, среди домашней птицы возрастает почти в 20 раз (с 3,5% до 63,2%) после четырех лет применения АМП. Применение пищевой добавки E715 авопарцина (по структуре и действию во многом идентичен АМП ванкомицину) в качестве стимулятора роста у сельскохозяйственных животных в Европе привело к появлению и распространению устойчивых к ванкомицину энтерококков как нормальной микрофлоры кишечника этих животных, так и на поверхности мясных ПП. Одновременно было отмечено появление у людей устойчивых к ванкомицину энтерококков в составе кишечной микробиоты, хотя ванкомицин в стационарах применялся в очень ограниченных случаях. Это произошло в результате формирования перекрестной резистентности к авопарцину и ванкомицину и переноса устойчивых к ванкомицину энтерококков от животных, которые получали авопарцин к человеку через ПП животного происхождения. В противоположность медицине, где правилом является индивидуальное применение АМП, «молодняк» сельскохозяй-



ственных животных, например, поросята и бройлерные цыплята, нередко получают АМП все вместе. Соответственно, у таких животных контакты с АМП происходят гораздо чаще, чем у людей. Практически во всех странах ПП животного происхождения контаминированы бактериями, в результате чего формируется основной путь передачи устойчивых бактерий и генов резистентности от сельскохозяйственных животных к человеку. В настоящее время такие ПП, являются важным резервуаром резистентных к АМП сальмонелл, а факторами передачи резистентных сальмонелл служат говядина, свинина, птица и молочные продукты, а также яйца и плодоовощная продукция. Случаи развития у людей пищевых инфекций, вызванных такими резистентными бактериями, четко документированы во многих странах. Особую тревогу вызывает развитие устойчивости к АМП, которые имеют критическое значение в медицине. Исследования, проведенные в 2007 г. в странах Европейского Союза, показали, что частота резистентности к ципрофлоксацину - одному из наиболее важных АМП для лечения инфекций у человека, среди штаммов сальмонелл, выделенных из мяса цыплят-бройлеров, составляла 29%.

Выводы. Безопасность пищевых продуктов обеспечивается принятием мер, способных сделать ПП максимально безопасными для употребления. Стратегии и меры обеспечения безопасности ПП должны охватывать все этапы цепи продовольственного снабжения, начиная от условий окружающей среды и включая сырьевое производство, переработку, реализацию и приготовление ПП с целью употребления в пищу. Меры включают шаги, призванные гарантировать безопасность ПП.

РОЛЬ АНАЛИЗА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ ПРИ ОБОСНОВАНИИ ФИНАНСИРОВАНИЯ ИХ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ПРОФИЛАКТИКИ

Князев М.Ю., Малышев В.В., Ветлужских А.А.
*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Пути и обоснование дальнейшей оптимизации эпидемиологического надзора за ОКИ весьма актуальны. В рамках темы НИР шифр ВИРИОН № VMA, 2016 г. изучалась микробиологическая структура ОКИ при исследовании их эпидемиологии и обосновании финансирования их профилактики. Необходимость совершенствования учетно-отчетной документации, созда-



ние электронного документооборота, внедрение новых информационных технологий, создание современных баз данных, снабженных математическими программными решениями для проведения своевременного эффективного анализа и прогнозирования заболеваемости требуют определенных финансовых затрат. Разными авторами (Миндлина А.Я., Полибин Р.В., 2008 г. и др.). В литературе обращается пристальное внимание на необходимость унификации порядка сбора и обработки информации, принятие единых стандартов для федерального и регионального уровней. Большое значение имеет определение перечня эпидемиологически значимых объектов и параметров оценки их санитарно-эпидемиологической надежности. Однако, используемые ныне параметры эпидемиологической безопасности пищевых продуктов включают мониторинг лишь бактериальных агентов, исключая наблюдение за целым рядом других патогенов. Авторы подчеркивают необходимость эпидемиологического надзора за устойчивостью микроорганизмов к дезинфицирующим средствам (Саперкин Н.В., Ковалишена О.В., 2011г.). Все это ставит вопрос об оптимизации финансирования данных исследований и противоэпидемической работы.

Наши исследования показали, что, превентивные меры, направленные на снижение заболеваемости ОКИ, невозможны без современной, уточненной информации об их этиологической структуре; контингентах заболевших, территориях, времени и иных ведущих факторах риска. Отсутствие обоснования актуальности профилактики ОКИ может препятствовать приоритетному финансированию научных исследований и внедрение программ борьбы с этими болезнями.

Таким образом, проведенный нами анализ литературы свидетельствует об эволюционных изменениях эпидемического процесса ОКИ в современный период, проявляющихся изменением его интенсивности, этиологической структуры, сезонности. В обществе и отчасти в войсках изменились стереотипы питания и водопотребления, технологии изготовления, условия транспортировки и реализации продуктов на войсковых объектах питания и в торговой сети. Вместе с тем, недостаточно комплексных исследований изучения связи заболеваемости ОКИ с региональными факторами риска (районы дислокации войск). Остается мало исследованной роль кишечных вириозов, протозоозов в общей структуре ОКИ. В этих условиях очевидна необходимость переоценки этиологической роли возбудителей, факторов передачи инфекции, поиск дополнительных факторов риска, формирующих эпидемический процесс ОКИ в войсках на современном этапе и совершенствование эпидемиологического надзора.



СОВРЕМЕННАЯ ЭТИОЛОГИЯ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ И ОБОСНОВАНИЕ ИХ ПРОФИЛАКТИКИ В НИЖЕГОРОДСКОМ ГАРНИЗОНЕ. РОЛЬ «АУТСЕРСИНГОВЫХ» КОМПАНИЙ

Князев М.Ю., Малышев В.В., Ветлужских А.А.
*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

По результатам темы НИР шифр ВИРИОН № VMA, 2016 г. показана эпидемиологическая структура ОКИ в Нижегородском гарнизоне. По нашим данным острые кишечные инфекции продолжают оставаться одной из ведущих проблем, как гражданского здравоохранения, так и военной медицины. Повсеместное и широкое распространение кишечных патогенов среди населения и личного состава войск Центрального региона (г. Нижний Новгород) свидетельствует о ряде нерешенных проблем, связанных с социально-экономическими факторами, активностью водного и пищевого путей передачи, снижением объема обязательных лабораторных исследований на возбудителей ОКИ. В настоящее время снижение объема обязательных и специфических лабораторных исследований, прежде всего на условно-патогенные энтеробактерии и маркеры кишечных вирусов, а то и отсутствие таковых в лечебных учреждениях и центрах государственного санитарно-эпидемиологического надзора МО РФ, привело к тому, что около 70-90% ОКИ остаются этиологически не идентифицированными и регистрируются в рубрике «другие кишечные инфекции».

Ситуация с заболеваемостью ОКИ личного состава соединений и частей дислоцируемых в гарнизоне не стала исключением из общей тенденции по Вооруженным Силам РФ. Если 20 лет назад кишечные инфекции (по показателям первичной обращаемости) устойчиво занимали третье место в структуре инфекционной патологии военнослужащих ВС РФ после ОРЗ (гриппа) и ангин. Их доля варьировала от 1,4 в 1993 году до 5,7% в 1999 году, в 2005 – 3,6%. Этиологическая структура остается не расшифрованной у 79% больных.

При детальном изучении причин высокой заболеваемости военнослужащих Нижегородского гарнизона ОКИ за указанный период было выявлено, что санитарно-гигиеническое состояние военных городков в гарнизоне (всего 9 военных городков) не всегда оценивалась как удовлетворительное, в части из них выявлялись условия и факторы, способствующие распространению инфекционных заболеваний, значительное количество воинских частей (от 42 до 17 в разн. периоды) были обеспечены водой ниже существующих норм и качество



ее далеко не всегда соответствовала СанПиН 2.1.4.1074-01. По сравнению с 1993 годом в 2000 году показатель обеспеченности городков водой ниже существующих норм потребления возрос с 5,5% по 32,6%. За этот же период процент несоответствия проб питьевой воды по показателя эпидемиологической безопасности увеличился с 4,5% до 22,7%.

Санитарное состояние солдатских столовых в гарнизоне ежегодно неоднократно оценивалось как неудовлетворительное.

Значительный эпидемический потенциал пищевых и водных вспышек ОКИ, высокий уровень ОКИ часто поддерживался недостаточностью усилий командования и служб тыла по рациональной организации питания и водоснабжения, очистки территории городков, что так же определяет актуальность проблемы острых кишечных инфекций в целом. В структуре идентифицированных ОКИ преобладали: а) у военнослужащих ВС РФ: 1) по призыву – шигеллез (среднее значение – 19,10%, в отдельные годы до 30,1%); по контракту - бактериальные пищевые отравления (среднее значение 14,7%, в отдельные годы до 22%); б) у всех военнослужащих гарнизона шигеллез имел следующие значения: 1) по призыву 31,5%, в отдельные годы до 35%, 2) по контракту 17,7%, в отдельные годы до 24,5%. В этиологической структуре шигеллезов преобладают шигеллы Флекснера, более 63,0%.

В 2008 г. проводились серологические исследования на ротавирусы с помощью ИФА у военнослужащих в очаге ОКИ 2 неустановленной этиологии и установлена доля ОКИ ротавирусной этиологии в нем, которая составила не более 20%.

Наши исследования, в последние годы, показали, что первичная обращаемость значительно снизилась, доля ОКИ в частях Нижегородского гарнизона и не превышает 1% (2011,2012,2013гг.). Заболевания отмечались в основном при длительных (3 месяца и более) нахождениях военнослужащих вне стационарных условий размещения. Это связано со значительным улучшением материально-технического состояния военных городков. В 2010 году был завершен капитальный ремонт практически всех солдатских общежитий, столовых и бань в гарнизоне. Организация питания личного состава в пунктах постоянной дислокации была передана так называемым «аутсорсинговым» компаниям, которые значительно улучшили не только разнообразие и качество приготовляемой пищи, но и санитарно-техническое состояние объектов продовольственной службы (столовые, продовольственные склады, хранилища, рефрижераторы и т.д.). Усилился производственный контроль (СЭН) за их деятельностью со стороны медицинской службы ВС РФ (врачи-специалисты ЦГСЭН ЗВО МО РФ, врачи (фельдшера) частей и соединений). То же самое можно сказать и о банно-прачечном обслуживании.



НЕКОТОРЫЕ ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПРОФИЛАКТИКЕ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ В ВС РФ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ АНАЛИЗА ИХ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ В НИЖЕГОРОДСКОМ ВОЕННОМ ГАРНИЗОНЕ

Князев М.Ю., Малышев В.В., Ветлужских А.А.
*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Назрела острая необходимость использования для этиологической расшивровки ОКИ неустановленной этиологии новых современных диагностических методов (ИФА, ПЦР и др.). Речь идет о внедрении этих методов в повседневную деятельность лабораторий территориальных ЦГСЭН и гарнизонных госпиталей. По нашим данным наиболее актуальны исследования на ротавирусную и энтеровирусную инфекцию.

При этом пополнении, прибывшему из очагов кишечной инфекций неустановленной этиологии, необходимо проводить дополнительное обследование на ротавирусы и энтеровирусы.

В условиях ограниченной возможности применения вакцины против ротавирусной и энтеровирусной инфекции, неудовлетворительного состояния водоснабжения военных городков применение противовирусных препаратов, а именно арбидола может стать важным фактором снижения заболеваемости этой инфекцией в эпидемиологически неблагополучных гарнизонах.

Необходимо внедрение новых форм санитарно-просветительской работы с личным составом по профилактике ОКИ (ее индивидуализация) с учетом возможностей использования новых информационных пространств (интернет – ресурсы, операторов сотовых сетей и т.п.).

С целью оптимизации эпидемиологического надзора за отдельными нозологическими формами острых кишечных инфекций необходимо разработать диагностические критерии случая острой кишечной инфекции, обусловленного условно-патогенной микрофлорой и вирусной (энтеро - и ротавирусной инфекции).



АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ НЕФЕРМЕНТИРУЮЩИХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ В МНОГОПРОФИЛЬНОМ СТАЦИОНАРЕ

Козлова Н.С.¹, Мокрова Е.В.¹, Баранцевич Е.П.², Баранцевич Н.Е.²

¹Северо-Западный государственный медицинский университет
имени И.И. Мечникова,

²Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр
имени В.А. Алмазова,
Санкт-Петербург

Цель исследования. Изучение устойчивости к антимикробным препаратам (АМП) неферментирующих грамотрицательных бактерий (НГОБ), выделенных от пациентов многопрофильного стационара.

Материалы и методы. Методом серийных разведений в агаре Мюллер-Хинтон была определена чувствительность 242 штамма НГОБ, выделенных из материала от госпитализированных больных с гнойно-септическими инфекциями, к двенадцати АМП - цефепиму, цефтазидиму, комбинациям тикарциллин / клавуланат, пиперациллин / тазобактам, цiproфлоксацину, имипенему, меропенему, дорипенему, гентамицину, амикацину, полимиксину и колистину. Изученные культуры были представлены 134 штаммами *Pseudomonas aeruginosae* и 108 культурами *Acinetobacter baumannii*.

Результаты и обсуждение. Большинство культур *Pseudomonas aeruginosae* (88,8%) оказались устойчивыми хотя бы к одному антибиотику. Был выявлен высокий удельный вес штаммов, резистентных к большинству изученных АМП – цiproфлоксацину и комбинации тикарциллин / клавуланат (по 83,6%), карбапенемам (меропенему – 82,1%, дорипенему – 81,3%, имипенему – 80,6%), гентамицину (77,6%), цефтазидиму (74,6%), цефепиму (73,1%), амикацину (59,7%) и пиперациллин / тазобактаму (53,7%). Из всех изученных антибиотиков только полимиксин и колистин сохраняли активность в отношении *P. aeruginosae*, доля изолятов, устойчивых к ним, составила 3,0% и 1,5% соответственно. Подавляющее большинство *Acinetobacter baumannii* (97,2%) оказались резистентны хотя бы к одному АМП. Были широко распространены штаммы, устойчивые к большинству изученных препаратов. Удельный вес культур, резистентных к карбапенемам, был очень высок, для меропенема и дорипенема он составил по 93,5%, для имипенема – 89,8%. Доля изолятов, устойчивых к комбинациям тикарциллин / клавуланат и пиперациллин / тазобактам, цефепиму и цефтазидиму, составила по 92,6%, гентамицину и цiproфлоксацину - по 90,7%, к амикацину – 86,1%. Только полимиксин и колистин были активны в отношении выделенных культур ацинетобактера, устойчивых к ним штаммов не было обнаружено.



Выводы. Среди неферментирующих грамотрицательных бактерий преобладали антибиотикорезистентные культуры, которые чаще встречались среди *A. baumannii*, чем среди *P. aeruginosae*. Подавляющее большинство штаммов НГОБ были устойчивы к большинству изученных АМП, включая цефалоспорины, ингибиторзащищенные бета-лактамы, аминогликозиды, фторхинолоны и карбапенемы. Наибольшую активность в отношении НГОБ проявляли только полимиксин и колистин, к которым были резистентны всего 3,0% и 1,5% *P. aeruginosae* соответственно и не было выявлено устойчивых штаммов *A. baumannii*.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ИНДИГЕННОГО ШТАММА *E. COLI* EB НА СОСТАВ НОРМАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА И ИММУННУЮ СИСТЕМУ

Козловская Г.В., Козловский Ю.Е., Силаенкова М.М.,
Пономаренко Е.А., Косырева А.М.

*Научно-исследовательский институт морфологии человека,
Москва*

Цель. Изучить иммуномодулирующее действие у штамма - кандидата в пробиотики и его взаимодействие с микробиомом на модели крыс Sprague Dawley.

Материалы и методы. Проведено сравнительное исследование экспрессии генов провоспалительных цитокинов и гамма интерферона в печени, селезенке и кишечнике самцов и самок крыс Sprague Dawley при интрагастральном введении штамма *E.coli* EB. Одновременно смотрели изменения в составе микробиома кишечника под воздействием исследуемого штамма. Проведена индукция спленоцитов ConA. О продукции цитокинов судили по экспрессии генов цитокинов, которую определяли методом количественной ПЦР на Rotor Gene 6000. В качестве референсного гена использовали ген 18S rRNA. Состав микробиома кишечника контрольных и опытных животных определяли как микробиологически, так и методом qPCR с использованием специфических для каждого таксона последовательностей гена 16 S rRNA. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica 6.

Результаты. При интрагастральном, в течение двух недель введении живых бактерий штамма *E.coli* EB в дозе 5×10^9 снижался уровень продукции цитокинов активированными ConA спленocyтocyтами. Более выражено снижение



продукции у самок. Получено статистически достоверное снижение экспрессии гена ИЛ2 в спленocyтaх у самок и тенденция к снижению экспрессии генов ИЛ4 и ИЛ10 независимо от пола. Изменения состава микробиома кишечника оказались строго индивидуальными. Но у всех подопытных животных было выявлено увеличение количества некоторых групп «дружественных микроорганизмов» (*Lactobacillus* и *Enterococcus*). Половые различия в ответе иммунной системы на воздействие исследуемого штамма *E.coli* EB, по-видимому, обусловлены различием гормонального фона. Вывод. Изменения в экспрессии генов цитокинов под воздействием исследуемого штамма подтверждают его иммуномодуляторные свойства.

ДИСКУССИОННЫЕ АСПЕКТЫ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

Королюк А.М.

*Санкт-Петербургский государственный педиатрический
медицинский университет,
Санкт-Петербург*

Обнаружена вероятная связь между молекулярно-конформационными особенностями туберкулезных аллергенов и труднообъяснимыми результатами некоторых инновационных кожно-аллергических проб (КАП) у детей и подростков.

Сравнивали два туберкулезных аллергена: стандартный туберкулин PPD-L и недавно введенный в практику отечественный аллерген туберкулезный рекомбинантный (АТР, Диаскинтест®). Руководящие фтизиатры настойчиво рекомендуют применять КАП с АТР для скрининга туберкулезной инфекции у детей и подростков в качестве более специфического и чувствительного метода, чем проба Манту с туберкулином PPD-L. Однако почему-то практические педиатры и фтизиатры часто регистрируют «отложенные реакции» на пробу с АТР при активном туберкулезе, а также отрицательные результаты пробы с АТР в ранний период первичной туберкулезной инфекции (РППТИ) у подавляющего большинства детей (90-97%).

Что касается известной пробы Манту с туберкулином PPD-L, то раннее появление положительных реакций при инфицировании ее критики объясняют малой специфичностью аллергена.

По нашим данным, отмеченные выше погрешности КАП с АТР, обусловлены особенностями третичной структуры крупных генноинженерных белков ESAT6/CFP10 в аллергене (Королюк А.М. и соавт., 2017). Дело



в том, что из-за ряда вставок и замен аминокислот в молекулах ESAT6 и CFP10, а также коротких линкирующих аминокислотных последовательностей, связывающих белки ESAT6 и CFP10 в рекомбинантном аллергене был искажен природная молекулярная структура белков. Получилось отклонение структуры конформационных доминант генноинженерных белков от аутентичных, которые образуются естественным путем при вегетации возбудителя туберкулеза. Это вероятно привело к снижению аффинности и avidности антигенных детерминант в рекомбинант-ном аллергене. Поэтому положительные реакции ГЧЗТ на АТР закономерно появляются только после длительной стимуляции иммунной системы антигенами возбудителя и накопления значимых концентраций сенсibilизированных Т-клеток. Что происходит уже в конце или после завершения латентного периода туберкулезной инфекции или в результате массивной контаминации детей микобактериями туберкулеза.

Проба Манту лишена этих недостатков, так как туберкулин PPD-L содержит 20 небольших природных белков, в том числе ESAT6 и CFP10, которые полностью идентичны синтезируемому *M. tuberculosis* протеинам, вызывающим иммунный ответ в организме инфицированных людей.

СОВРЕМЕННЫЕ ФТОРХИНОЛОНЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Кочеровец В.И., Бунятян Н.Д.

*Первый Московский государственный медицинский университет
имени И.М. Сеченова,
Москва*

Задачей настоящего исследования являлся сравнительный анализ эффективности и безопасности применения фторхинолонов (ФХ) системного использования в Российской Федерации (РФ).

Лекарственные препараты (ЛП) ФХ применяются в СССР/РФ 30 лет. Со временем некоторые из них утратили свои позиции на отечественном фармацевтическом рынке. Однако значительная часть по-прежнему востребована. Из 30-ти наиболее известных в мире хинолонов/ фторхинолонов в Государственном реестре лекарственных средств РФ сохраняют свое присутствие 11 наименований. Это: гатифлоксацин, гемифлоксацин, левофлоксацин, ломефлоксацин, моксифлоксацин, налидиксовая кислота, офлоксацин, норфлоксацин,



пепфлоксацин спарфлоксацин и ципрофлоксацин. Все они, за исключением налидиксовой кислоты, являются ФХ 2-4 поколения.

«Патриархом» отечественного перечня остается ципрофлоксацин – наиболее известный в мире ФХ. Ломефлоксацин рассматривается исключительно как противотуберкулезный препарат. Стабильные позиции в РФ занимают препараты офлоксацина, левофлоксацина и моксифлоксацина. Стандартами первичной медико-санитарной помощи и специализированной медицинской помощи, утвержденными Минздравом России в 2012 г., предусмотрено применение ЛПФ ФХ при лечении инфекционно-воспалительных заболеваний органов дыхательной и мочеполовой системы.

Оценивая динамику продвижения ФХ в РФ за прошедшие 20 лет, можно отметить следующие особенности. Максимальное число зарегистрированных торговых названий связано с ципрофлоксацином, левофлоксацином и офлоксацином, которые в 2014/2015 гг. были представлены соответственно 47, 32 и 28 торговыми названиями.

В последние годы регуляторные органы в сфере лекарственного обращения уделяют пристальное внимание мониторингу безопасности и переносимости ФХ. Данные, полученные в клинических исследованиях и при постмаркетинговом применении ЛП, показали необходимость соблюдать бдительность по отношению к любым неудачным результатам, связанным с применением ФХ. По этой причине в США были исключены из перечня разрешенных лекарственных средств гатифлоксацин, ломефлоксацин, норфлоксацин, пепфлоксацин и спарфлоксацин.

В РФ Росздравнадзор может принять аналогичное решение в рамках осуществления фармаконадзора доказательств о несоответствии ЛП установленным требованиям и получении информации о несоответствии данных об эффективности и о безопасности ЛП данным о ЛП, содержащимся в инструкции по его применению (в том числе выявленных контрольно-надзорными органами иностранных государств).

Серьезную озабоченность у Европейского агентства по лекарственным средствам вызывает безопасность медицинского применения пероральных ЛП моксифлоксацина. По данной теме в июле 2008 г. агентство распространило специальное предупреждение. В РФ с 2014 г. решение о назначении моксифлоксацина в процессе химиотерапии туберкулеза принимается фтизиатром только после консультации с психиатром.

В США с 2016 г. введены ограничения на применение ЛПФ ФХ системного использования при остром синусите, обострении хронического бронхита и инфекциях мочевыводящих путей с неосложненным течением. Рекомендовано включить информацию о сочетанном варианте двух и более нежелательных эффектов в нормативную документацию по применению ФХ.



ИННОВАЦИОННЫЕ ПОДХОДЫ ПРИ ОЦЕНКЕ ВИРУЛЕНТНОСТИ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

Краева Л.А.^{1,2}, Кунилова Е.С.², Петрова И.С.⁴,
Бургасова О.А.⁵, Панин А.Л.¹, Беспалова Г.И.³

¹Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,

²Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,

³Северо-Западный государственный медицинский университет
имени И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург,

⁴Инфекционная клиническая больница №1,

⁵Российская медицинская академия последипломного образования,
Москва

Актуальность. Экономический ущерб от заболеваний верхних дыхательных путей, обусловленных условно-патогенными бактериями, огромен: он превышает потери, вызываемые кишечной инфекцией, вирусными гепатитами и синдромом иммунодефицита человека, вместе взятыми. Этиологию таких заболеваний удастся установить лишь в 20-30% случаев. Наименее изученными в этом плане остаются некоторые виды стрептококков групп *anginosus* и *mitis*, которые незаслуженно обойдены вниманием бактериологов, особенно при фарингитах, тонзиллитах, ларингитах. В то же время при ринитах и синуситах часто выделяются эпидермальные стафилококки и клебсиеллы, а при пневмониях и отитах – моракселлы. Однако доказать причастность этих бактерий к развитию инфекционного процесса, опираясь лишь на вид выделенного микроба, очень сложно.

Поэтому целью нашей работы стало: разработать способы оценки вирулентности условно-патогенных бактерий для определения их этиологической значимости в развитии воспалительных процессов респираторного тракта.

Материалы и методы. Материалом для исследования служили 220 штаммов стрептококков различных видов, 44 штамма клебсиелл четырех видов, по 60 штаммов *Staphylococcus epidermidis* и *Moraxella catarrhalis*, выделенных от больных и здоровых лиц. В работе использованы следующие методы: бактериологические методы выделения микроорганизмов из клинического материала; методы выявления фенотипических маркеров вирулентности; методы выявления генотипических маркеров вирулентности; математические методы обработки данных.

Результаты исследования. У лиц, страдающих фарингитами, тонзиллитами, ларингитами в 3 раза чаще выделялись *S.anginosus*, в 2 раза чаще *S.oralis*



и в 1,2 раза чаще *S.mitis*, чем те же виды стрептококков от здоровых лиц. При обследовании лиц с воспалительными процессами в верхних дыхательных путях чаще обнаруживали стрептококки с наличием генов вирулентности. Так, штаммы *S.mitis*, выделенные от больных имели в 3 раза больше генов вирулентности, чем штаммы, выделенные от здоровых лиц. От лиц с фарингитами, тонзиллитами, ларингитами в основном выделяли штаммы стрептококков, содержащих несколько генов вирулентности.

С помощью фенотипического теста на клетках буккального эпителия подтверждено этиопатогенетическое значение гена вирулентности *Imb* у выделенных штаммов стрептококков.

Штаммы *Klebsiella oxytoca*, могут иметь гены вирулентности, характерные для штаммов *Klebsiella pneumoniae*: *MrkD*, *magA*, *kfu*. Причем, эти гены были обнаружены у 90% штаммов, выделенных от больных с синуситами и лишь у 5% здоровых лиц. В фенотипических тестах на клетках буккального эпителия показано проявление изучаемых генов.

В результате проведенных исследований было выявлено, что доля штаммов моракселл, содержащих ген *mcaP*, контролирующего выработку белка *McaP*, который обеспечивает прилипание к эпителиальной клетке хозяина и липолитическую активность, среди здоровых лиц был в 6 раз меньше, чем среди лиц с отитами, бронхитами, пневмониями. Поэтому обнаружение гена *mcaP* у 90% штаммов *M.catarrhalis*, выделенных от больных, и особенно 100%-ное присутствие этого гена у штаммов, выделенных от лиц с пневмониями, должно насторожить как микробиологов, так и врачей лечебного профиля.

В экспериментальной части работы установлено фенотипическое подтверждение экспрессии этого гена путем определения адгезивных свойств бактерий на клетках буккального эпителия. Так, штаммы *M.catarrhalis*, выделенные от здоровых лиц, обладали адгезивной активностью в среднем в 3 раза ниже, чем штаммы, выделенные от больных. При этом наибольший индекс адгезии (17,3 + 1,6) был характерен для штаммов, выделенных при пневмониях. При бронхитах выделялись штаммы с индексом адгезии (14,6 + 1,4). Наименьший показатель среди больных имели штаммы, выделенные от лиц с отитами (13,8 + 1,5).

Штаммы *S.epidermidis*, выделенные от здоровых лиц, в фенотипических тестах обладали адгезивной активностью в среднем в 2,4 раза ниже, чем штаммы, выделенные от больных. Эти же штаммы имели ген *isaA*, отвечающий за вирулентность стафилококков этого вида, особенно его способность к биоуплотнению. Причем, при ринитах индекс адгезии составлял (14,8 + 2,8), в то время, как при синуситах он доходил до (26,7 + 3,6), что выше, чем у здоровых лиц более, чем в 3 раза. Полученные данные явно указывают на причастность гена *isaA* к развитию синуситов.

Заключение. Результатом нашей работы явилась разработка алгоритма микробиологического исследования материала от больных с различными вос-



палительными процессами респираторного тракта с последовательным определением генов вирулентности у выделенных штаммов условно-патогенных микроорганизмов и дальнейшим фенотипическим подтверждением их экспрессии. В случае наличия у выделенных бактерий генетических и фенотипических маркеров вирулентности такие штаммы следует признавать однозначно этиологическим фактором инфекционного процесса.

ВИДОВАЯ ДИАГНОСТИКА ПРОМЫШЛЕННЫХ ДРОЖЖЕВЫХ КУЛЬТУР ПО СОСТАВУ ЖИРНЫХ КИСЛОТ КЛЕТОЧНОЙ ОБОЛОЧКИ

**Кручина-Богданов И.В., Лыскова Н.С.,
Васипов В.В., Канарский А.В.**
*Малое инновационное предприятие
«Аналитика. Материалы. Технологии»,
Санкт-Петербург*

Цель работы. Потенциальная угроза здоровью персонала крупнотоннажных микробиологических производств связана с риском развития патогенной микрофлоры (кандидозы, аспергиллезы) из-за неконтролируемых микробных контаминаций при непрерывных ферментационных процессах. Фенотипическое сходство промышленных штаммов безвредных кормовых дрожжей с опасными для здоровья видами *Candida* не позволяет обычными для заводской лаборатории методами микроскопии обнаруживать заражения, а традиционные микробиологические приемы идентификации занимают от нескольких часов до нескольких суток. Таким образом, становится актуальной цель работы – создание метода оперативного контроля видового состава промышленных дрожжевых микроорганизмов по количественному соотношению жирных кислот (ЖК) в липидах клеточной оболочки, определяемому методом газовой хроматографии метиловых эфиров.

Материалы и методы. В работе использованы штаммы кормовых дрожжей из различных коллекций, а также образцы культур, выращенных на сульфитных щелоках в промышленных условиях. Процедура получения метиловых эфиров ЖК выполнена в соответствии с протоколом MIDI [Sasser, 2001]. Анализ жирнокислотного состава проводили на хроматографе Shimadzu-2010, колонка СВР-5 (25 м, 0,25 мм, 0,25 мкм), газ-носитель азот, отнесение пиков – по эффективной длине углеродной цепи (ECL). Полное время цикла анализа с подготовкой пробы – менее 1,4 часа.



Результаты и обсуждение. Корреляционный анализ полученных данных о составе ЖК в исследованных образцах в сопоставлении с показателями из литературы позволил сделать заключения о видовом составе исследованных культур. Показано, что в образцах заводской продукции наблюдается периодическое вытеснение рабочего штамма *Candida sp.* менее продуктивными дрожжами *Hansenula anomala*. При этом патогенных видов дрожжей в исследованных образцах выявлено не было.

Выводы. Обсуждаемый метод контроля дрожжевой микробиологической продукции путем газохроматографического анализа метиловых эфиров жирных кислот из липидов клеточной оболочки позволяет с достаточной скоростью и достоверностью оперативно оценивать видовую чистоту получаемых дрожжей. Этот подход перспективен с точки зрения снижения рисков заболеваемости персонала за счет более раннего выявления возможных патогенных контаминаций в процессе культивирования.

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ У ДЕТСКОГО НАСЕЛЕНИЯ Г. НОВОСИБИРСКА

Курская О.Г.¹, Соболев И.А.¹, Цжен М.²,
Аношина А.В.⁴, Леонова Н.В.⁴, Рябиченко Т.И.^{1,3}

¹Научно-исследовательский институт экспериментальной
и клинической медицины,

²Новосибирский национальный исследовательский
государственный университет,

³Новосибирский государственный медицинский университет,

⁴Детская городская клиническая больница №6,
г. Новосибирск

Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) – самая частая патология, встречающаяся вне зависимости от возраста, места проживания и социального статуса человека. В России ежегодно регистрируется 25-35 млн. случаев заболевания гриппом и другими ОРВИ, из которых 45-60% – среди детского населения (Колобухина Л.В. и др., 2011). Актуальность проблемы обусловлена не только высокими цифрами распространенности, но и высокими цифрами смертности, которые составляют от 250 до 500 тыс. человек в год. Кроме того, ОРВИ – экономическая проблема, ущерб от которой составляет 86% от приносимого ущерба всеми инфекционными заболеваниями. ОРВИ вызывают различные вирусные возбудители, которых на сегодня насчитывают более 200



видов. Несмотря на общие патогенетические механизмы развития, часто возникает необходимость проведения дифференциального диагноза с целью установления точного возбудителя ОРВИ, выбора тактики лечения и предупреждения осложнений (Самсыгина Г.А. и др., 2009).

Целью данной работы явилось изучение этиологической структуры ОРВИ, в том числе гриппа, у детей г. Новосибирска. Для этого во время сезонного повышения заболеваемости острыми респираторными заболеваниями производился сбор клинического материала (мазки из носа и зева) у детей, поступивших в стационар с симптомами ОРВИ. Исследование материала на наличие генетического материала вирусов, вызывающих острые респираторные заболевания (респираторно-синцитиальный вирус, риновирус, метапневмовирус, вирус парагриппа, коронавирус, аденовирус, бокавирус, вирус гриппа), осуществляли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с помощью коммерческих наборов «АмплиСенс». В ходе исследования было проанализировано 1463 мазков из носа и зева, собранных в период с ноября 2013 г. по март 2017 г. у детей в возрасте до 15 лет. При этом доля детей младше 1 года составила 20,9%; в возрасте 1- 3 года – 43,4%; 4- 6 лет – 16,5%; 7 лет и старше – 19,2%. Наличие генетического материала вирусов, вызывающих ОРВИ, было выявлено в 71,8% случаев, причем у 10,3% обследованных детей отмечалась вирусная ко-инфекция. Наименьший уровень выявления вирусов наблюдался у детей старше 7 лет. В целом, показано, что наибольшую эпидемиологическую значимость в структуре ОРВИ у детей имели респираторно-синцитиальный вирус, вирус гриппа и риновирус, составив 31,9%, 29,5% и 20,2% от случаев с уточненной этиологией соответственно. Вместе с тем, доля респираторных вирусов в структуре ОРВИ варьировала в различных сезонах и в разных возрастных группах.

ОСНОВАННАЯ НА РАСПОЗНАВАНИИ ГЛИКОКОНЪЮГАТОВ СТРАТЕГИЯ ВЫБОРА КУЛЬТУР КЛЕТОК ЗАЩИТНОГО РЯДА, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХСЯ НАПРАВЛЕННЫМИ НА МИШЕНИ ЛЕКТИНОВЫМИ СИСТЕМАМИ

Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А.

*Московский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского,
Москва*

Лектиновые системы (ЛС, > 27 кД, в интервале рI 4-8) были нами идентифицированы и очищены из культуральных жидкостей промышленных про-



биотических штаммов (ключевых ингредиентов пробиотиков) лактобацилл и бифидобактерий человека с помощью изоэлектрофокусирования в пластине полиакриламидного геля и дальнейшей экстракции лектинов из позиций в геле, соответствующих тестированию связывания гликоконъюгатов (ГК, www.lectinity.com) на блотинговых мембранах. Полученные ЛС имитировали действие пробиотиков.

Цель. Предложить основанную на ГК стратегию выбора пробиотических штаммов микроорганизмов, обладающих направленными на мишени различающимися лектиновыми системами.

Результаты и обсуждение. Выбор желаемых прогнозируемых обусловленных взаимодействиями ЛС-ГК направленных событий в биотопе может определяться и регулироваться путем применения различных типов ГК (набор синтетических ГК-мишеней может быть неограниченно расширен). Использование искусственных полимерных ГК с известной химической структурой (потенциальных метабиотиков со свойствами лекарств) позволяет получение объяснимых адекватных и надежных результатов. В соответствии с имитирующим природные гликополимеры потенциалом ГК, результирующие события (инициирующие, каскадные, пролонгирующие, переключающие в узлах разветвленной сети интерактома, влияющие как «сеть-на-сеть») в биотопе могут прогнозироваться как следующие: антипатогенные активности (использование ГК, рефлексирующих мозаику ГК поверхностноклеточных и клеточно-стеночных структур: производных пептидогликанов, сialiрированных олигомерных конфигураций и кластерных площадок, гликоантигенов, других); пребиотические и синбиотические активности (использование ГК, имитирующих пребиотики: сульфатированных производных L-фуканов; модифицированных олигомеров D-галактозидов, других); усиление собственных защитных систем человека (использование ГК, взаимодействующих и регулирующих совместно с ЛС внутрибрюшинные макрофаги и макрофаги-подобные лимфоциты крови, систему комплемента: фосфоманнанов, других модифицированных D-маннанов и D-глюканов, гликоантигенов); дежурные активности противодействия ткане-клеточному канцерогенезу, развитию опухолей и их распространению на уровне поддержки и восполнения нормального гликомного поверхностноклеточного декора (использование избыточного пула нормальных антигенных ГК [растворимых и твердофазных] вместе с балансными ЛС [твердофазных и растворимых]); каскады «цитокин-лектин-» и «лектин-цитокин-», инициируемые или регулируемые посредством ЛС и ГК (вовлечение маннанов, их производных и других ранжированных по средству ГК-мишеней, специфичных к ряду интерлейкинов, других цитокинов и их каскадов). Таким образом, описанный выше подход использования направлений ЛС-панель ГК) является универсальным для штаммового (или консор-



циума штаммов) предсказуемого преимущественного потенциала *in vitro* и *in vivo* (в условиях сред, приближенных к биотопным).

Выводы. Предложенный подход универсален и является перспективным для скрининга, селекции, стандартизации, типирования штаммов и мультиштаммовых консорциумов грамположительных бактерий, модуляции сцепленных с лектиновыми активностями других биологических и физиологических действий. Более того, подход должен быть успешным при конструировании и оптимизации специальных сред (например, при выборе модуляторов ЛС и сцепленных с ними активностей), когда требуется улучшить свойства выбранного штамма и консорциума штаммов, в том числе традиционных пробиотиков.

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ПРОБИОТИЧЕСКИЕ ИСТОЧНИКИ ЛЕКТИНОВ: РАЗНООБРАЗИЕ ЛЕКТИНОВЫХ СИСТЕМ РАСПОЗНАВАНИЯ МУЦИН-ПОДОБНЫХ ГЛИКОКОНЬЮГАТОВ

Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А.

*Московский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского,
Москва*

Нами очищены и охарактеризованы (в том числе по антимикробным свойствам и синергизму с антибиотиками) лектиновые системы (ЛС) из культуральных жидкостей штаммов лактобацилл и бифидобактерий человека - ингредиентов пробиотиков Ацилакт, Бифидин, Бифидобактерин, Бифидок, Биовестин и других. ЛС (кислые, рI в интервале 4-7; щелочные, рI 7-8) проявляли специфичность в связывании полимерных гликоконъюгатов (ГК, www.lectinity.com), имитирующих модифицированные природные маннаны, галактаны, фуканы, гликозаминогликаны. Нами показано с использованием препаратов лектинов, что кислые ЛС (в интервале рI 4-5) бифидобактерий и лактобацилл обладают ранним пролонгированным антимикробным действием, в отличие от щелочных ЛС, проявляющих отсроченное антимикробное действие. Расширение источников ЛС (в том числе распознающих последовательности углеводов - паттерны муцинового типа) способствовало бы более широкому их применению.

Цель. Провести сравнительную оценку кислых (рI 4-5) ЛС распознавания муцин-подобных ГК перспективных пробиотических штаммов человеческой природы.



Материалы и методы. Использовали фракции (27-220 кД, рI 4-8) штаммов *B. angulatum* OV-15, *B. bifidum* 791, *B. longum* B379M и X, *B. pseudocatenuatum* OV-2, *L. amylovorus* БТ 24/88, *L. helveticus* NK1 (штаммы №№ 1-7, соответственно), разделенные изофокусированием (рН 4-8) в полиакриламидном геле с мочевиной и электроблотированные на immobilon P (Millipore). Сравнение ЛС проводилось на единых для набора трековых штаммов блотах (в идентичных условиях обработки блотов, регистрации свечения и операций редактирования картин, когда каждый из соседних треков может выполнять функцию дополнительного контроля при анализе определенного трека – анализе ЛС штамма). Белки окрашивали SYPRO (Bio-Rad), а лектины - биотинилированными ГК на основе линейной цепи полиакриламида (РАА) с боковыми множественными (25% углеводов, случайным образом распределенных «площадочных» мультивалентных кластеров, имитирующих аналогичные кластерные «площади» муцинового типа в полипептидной цепи со сблоченными остатками Ser и/или Thr) ответвлениями моно- и дисахаридных содержащих различающиеся конфигурационные сочетания терминально экспонированных остатков N-ацетил-D-галактозамина с маскированными - «внутренними» остатками D-галактозы или добавочного N-ацетил-D-галактозамина: Adi- (A-blood group substance GalNAc α 1-3Gal β 1-), Fs- (Forsman disaccharide antigen GalNAc α 1-3GalNAc β 1-), GalNAc- (Sugar-PAA-b; www.lectinity.com). Еще одним паттерновым ГК служил синтетический полимер мурамилдипептида (MDP-PAA-b), имитирующий микробные пептидогликаны. Для одновременной регистрации ЛС со средством к ГК двух типов одновременно использовали два мультитрековых (мультиштаммовых) блота с ЛС, обработанных Fs или MDP. Связанные ГК обрабатывали стрептавидин-пероксидазой и проявляли хемиллюминесцентным субстратом. Свечение регистрировали в режиме живого изображения в системе BioChem System (UVP).

Результаты и обсуждение. 1. Общие свойства ЛС: расположение ЛС в белковых массивах; мозаичное распределение компонентов; выраженность Adi-ЛС > Fs-ЛС >> GalNAc-ЛС; взаимодополняемость Adi-ЛС и GalNAc-ЛС при окрашивании одних и тех же компонентов; взаимодополняемость Adi-ЛС и Fs-ЛС при окрашивании более кислых и менее кислых компонентов, соответственно; слабые различия между ЛС лактобацилл и бифидобактерий по рI-компонентам в случае Fs (несколько «сдвинуты» у бифидобактерий в кислую сторону), по выраженности – максимальны в случае GalNAc (отсутствуют у некоторых штаммов обоих родов); выраженность минорных компонентов преимущественно в более кислой (в случае Adi) или менее кислой (в случае Fs) области; число мажоров варьирует в интервале 1-7 (по 1 может быть у лактобацилл [№ 6 в случае Fs] и бифидобактерий [№ 2 в случае GalNAc], максимальное число – у лактобацилл [№ 7 в случае Adi]). 2. Сравнительная выраженность ЛС у штамма. ЛС муцинового типа у лактобацилл: № 7 (GalNAc) > Adi >> Fs;



№ 6 (протяженность ЛС: Adi> Fs>>GalNAc [следы], выраженность максимального мажора: Fs> Adi>> GalNAc [отсутствует]). ЛС муцинового типа у бифидобактерий: № 3 (Adi> Fs>> GalNAc [нет]), № 4 (Adi> Fs> GalNAc [следы]), № 2 (Fs> GalNAc), № 5 (Fs [следы]), № 1 (не выражены). 3. Одновременное распознавание паттерновых типов ГК (Fs и MDP). MDP-ЛС были выражены у лактобацилл: № 7 (мажор – в области pI 4 [нет в Fs-ЛС компонентов узнавания MDP], менее выраженный компонент – в области, близкой к pI 5 [есть в Fs-ЛС лактобацилл и бифидобактерий компоненты распознавания MDP]); № 6: оба компонента (с pI как у № 7) были в равной степени выражены. Мажор у № 7 характеризовал штаммовую MDP-ЛС, как независимую от Fs-ЛС того же штамма.

Выводы. 1. Результаты указывают на то, что ЛС пробиотических бактерий человека распознают паттерновые структуры ГК (в том числе гликоантигены и пептидогликаны), проявляя тем самым олигосахаридную (тонкую) специфичность к ГК, «чувствуют» маскированные углеводные остатки в гликановых последовательностях. Это повышает потенциал использования ЛС в сенсорных реакциях распознавания мишеней.

2. Описанные ЛС распознавания различающихся ГК муциновых типов позволяют осуществлять широкомасштабную регуляцию ключевых процессов базового узнавания в биотопах слизистых открытых полостей организма человека на уровне микробиоценозов, а также клеток, тканей и мукозальных органов человека.

3. Перспективна разработка нового поколения про/синбиотических препаратов на основе конструирования направленных на мишени ЛС в культурах продвинутых пробиотических штаммов.

ЛЕКТИНЫ ПРОБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ ЧЕЛОВЕКА ПРОТИВ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ КАНДИД ПАЦИЕНТОВ

Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С.,
Байракова А.Л., Алешкин В.А.

*Московский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского,
Москва*

Нами выделены новые факторы антимикробного контроля - лектины пробиотических бактерий (ЛПБ: ЛЛ и ЛБ- лектины лактобацилл и бифидобактерий), продуцируемые культурами индигенной микрофлоры человека и



проявляющие свойства Ацилакта и бифидобактериальных пробиотиков. Нами установлено сходство ответов кандид видов *C.albicans* и *C.tropicalis* (функциональной группы I, главной по количеству вызываемых дрожжеподобными грибами инфекционных болезней среди населения) в отношении антимикробных агентов и факторов, отличающихся от вида *C.krusei* (относящегося к функциональной группе II).

Цель. Использовать набор ЛПБ в оценке особенностей микробиоценозов патологически измененных биотопов урогенитального тракта пациентов, охарактеризовать антикандидный потенциал ЛПБ.

Материалы и методы. Исследовали изоляты установленных видов кандид соскобов областей урогенитального тракта пациентов, наблюдавшихся в КДЦ при МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, с установленным диагнозом патологии (кольпит, цервицит, аднексит, уретрит, кандидоз, вагиноз/вагинальный дисбиоз, бактериальный вагиноз, гарднереллез; хронические и острые формы). Биотопы охарактеризованы на отсутствие и относительную выраженность лактобацилл и бифидобактерий, сопутствующие инфекции, наличие лейкоцитов. Взаимодействие ЛПБ (препаратов кислых и щелочных ЛБ и ЛЛ) с кандидами исследовали в микропанели турбидиметрией суспензий в физрастворе (37°C, 1-3 суток), а также на агаре со средой Сабуро в условиях пролонгированного стресса.

Результаты и обсуждение. 1. Выявлены типизируемые кислыми ЛПБ кандиды: 1.1. Штаммы не-альбиканс (два вагиноза, один вагинит, один уретрит, один хронический кандидоз). 1.2. Штаммы *C.tropicalis* (два цервицита, один хронический вагиноз). 1.3. Штаммы *C.krusei* (два уретрита, два вагиноза). 1.4. Примеры ЛПБ-типирования (в трехбальной шкале): экспонирование маннанов *C.tropicalis* $738[\text{ЛБ}^{3+}\text{ЛЛ}^-] > 665[\text{ЛБ}^{2+}\text{ЛЛ}^+] \geq 633[\text{ЛБ}^+\text{ЛЛ}^{2+}]$ или *C.krusei* $687[\text{ЛБ}^{2+}\text{ЛЛ}^+] > 396[\text{ЛБ}^+\text{ЛЛ}^-]$ на фоне доступности муцинов у 665 и 633; $687 < 584$ по сродству к ЛЛ; сходство 633 и 73 (ЛБ и ЛЛ), 73 и 42 (ЛЛ), 73 и 4 (ЛБ). 1.5. Кандиды патологически измененных биотопов характеризовались сходством по чувствительности к ЛПБ с сенсibilизированными гидролазами (сиалидазой клостридий или трипсином) клетками крови человека. 2. Применение растворимых и сорбированных ЛПБ против кандид. 2.1. Действие растворимых форм ЛПБ. 2.1.1. Наблюдалась индукция смены биоритма кандид в присутствии субгеммагглютинирующих (менее 1 мкг/мл) доз ЛПБ в первые сутки инкубации в условиях микропанели (выведение кандид из исходного «равновесного» устойчивого состояния, характерного для микроэкологических ниш условных патогенов в организме; переход спонтанного биоритма в синхронный, когда все клетки популяции становятся доступными в определенный промежуток времени антигрибковым агентам; трансформация мультифакторных ассоциатных мишеней в демаскированные сенсibilизированные уязвимые для антигрибковых ударных комбинаций



мишени). 2.1.2. Наблюдалось установление ЛПБ-индуцированного синхронизированного биоритма во вторые-третьи сутки (имела место дезагрегация клеток *S.tropicalis*: были достаточны на порядок меньшие субгеммагглютинирующие дозы ЛБ, чем ЛЛ; достигались сенсбилизация и демаскирование клеток, повышение их доступности антикандидным агентам). 2.1.3. Выполнение предыдущих двух пунктов обуславливало проявление синергистических (ЛБ и ЛЛ)-индуцированных сцепленных с лектиновым распознаванием антикандидных активностей в более поздние сроки (ЛБ>ЛЛ в случаях *S.albicans* и *S.tropicalis* [относительные выраженность гидролаз и демаскированность поверхности], ЛЛ>ЛБ в случае *S.krusei* [относительная выраженность защищенной не демаскированной поверхности с разнообразием ландшафта гликоконъюгатов]). 2.2. Действие сорбированных на дисках ЛПБ. Выявлялись относительные селективность и полнота раннего супрессирующего рост (в случаях кислых лектинов) и отсроченного вызывающего широкомасштабную деструкцию и лизис (в случаях кислых и щелочных лектинов) антикандидного действия ЛПБ в рамках имитирующих ниши ландшафтов организованного на твердой среде массива *S.albicans*, в том числе антимикотики-резистентных штаммов, в том числе в условиях пролонгированного стресса. Установлены синергистически действующие против представителей кишечных и урогенитальных кандид обеих групп комбинации ЛПБ и антимикотиков, выявлены случаи ландшафтного антикандидного мультисинергизма. Мозаичные комбинации компактно сорбированных ЛПБ направленно и предсказуемо «организовывали» пролонгированные мощные атаки на массивы коммуникативного «тела» *S.albicans* (кислые ЛПБ – снаружи, а щелочные ЛПБ - «изнутри»).

Выводы. 1. Результаты указывают на присутствие в патологических биотопах урогенитального тракта индикаторных сенсбилизированных кандид с повышенным дифференцированным сродством к ЛБ и ЛЛ.

2. Перспективно использование комбинаций ЛПБ, компенсирующих отсутствие или недостаток пробиотической микрофлоры.

3. Целесообразно использование ЛПБ в качестве ингредиентов антикандидозных биопрепаратов, восполняющих спектр пробиотической составляющей микробиоценоза.

4. ЛБ и ЛЛ полезны в диагностике ранних изменений в биотопах.

5. (ЛБ,ЛЛ)-типирование выявляет чувствительные и резистентные к ЛПБ дрожжеподобные грибы – индикаторы риска развития инфекционных болезней и потенциальные мишени воздействия антимикробных средств, является новым средством дополнительной стандартизацией штаммов интереса, может служить руководством для выработки стратегии лечения пациента комбинациями антимикробных средств.



ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА НОРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Лашинский С.В., Небредовский В.Н.

*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Для лабораторного подтверждения диагноза норовирусной инфекции могут быть использованы прямые (иммуноэлектронная микроскопия, молекулярно-биологический) и непрямые (серологические, иммунохроматографические) методы. Полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией по «конечной точке» или в режиме «реального времени» (РВ-ПЦР) и серологические методы диагностики норовирусной инфекции являются основными для постановки диагноза в практических лабораториях.

Материалом для исследования служат образцы фекалий и рвотных масс, собранные в начале болезни (желательно первые сутки), и сыворотка крови.

Электронная микроскопия не зависит от применения специфических для определенного возбудителя реагентов (например, антител или набора праймеров). Чувствительность электронномикроскопического исследования невелика и составляет 35–50%. Методы электронной микроскопии (иммунной электронной микроскопии) в настоящее время не находят широкого практического применения и представляют исторический интерес.

На базе поликлональных и моноклональных антител были разработаны различные варианты иммуноферментных диагностических тест-систем (ИФА). Чувствительность тестсистем нового поколения оценивается как 60–90% при специфичности, близкой к 100%. ИФА тестсистемы также применяют для того, чтобы быстро выяснить, является ли причиной группового заболевания норовирусная инфекция и позволяет идентифицировать норовирусы как этиологический агент с чувствительностью 92%. Этот показатель лишь немногим уступает чувствительности ОТПЦР (96%), использованной для этой же цели.

В последние годы созданы и доступны на рынке несколько быстрых иммунохимических тестов для выявления антигенов норовирусов. Их чувствительность составляет 75–90%, а специфичность близка к 100%. Время проведения анализа с помощью экспрестеста не превышает 15 мин, что является их основным преимуществом.

Наиболее чувствительными и широко используются для диагностики норовирусной инфекции являются методики определения вирусной РНК, основанные на ОТПЦР. Высокая чувствительность делает их пригодными как при спорадических случаях заболевания, так и для выявления вируса, вызвавшего



вспышку. Они применяются также в качестве подтверждающего теста. В то же время эти методы достаточно сложны, требуют наличия специального оборудования и квалифицированного персонала. Анализ проводится в специальных лабораториях, куда должны быть доставлены образцы, предназначенные для исследования. Это приводит к потере времени, которое, учитывая быстроту распространения вируса во время вспышки, часто является определяющим фактором, от которого зависит ее предотвращение. Хотя введение в практику наборов ОТ-ПЦР в режиме реального времени позволяет значительно сократить время, необходимое для проведения анализа, проблема затраты времени на транспортировку образцов остается нерешенной. Важным преимуществом ОТ-ПЦР анализа является его применимость к исследованию образцов окружающей среды. Чувствительность и специфичность ОТ-ПЦР зависят от способа очистки вирусной нуклеиновой кислоты, праймеров, используемых для амплификации, метода интерпретации результатов теста.

Для повышения чувствительности обнаружения норовирусов в 100 - 1000 раз используют «гнездовую» или «полугнездовую» ПЦР. Однако главный недостаток этого подхода - увеличение возможности перекрестной контаминации образцов. Избежать этого недостатка позволяет постановка ПЦР с детекцией в режиме реального времени. Разработаны методики РВ-ПЦР для выявления норовирусов I-й и II-й геногрупп.

Диагностические тест-системы на основе ИФА или иммунохроматографии с выявлением антигенов норовирусов в фекалиях имеют более низкую диагностическую чувствительность по сравнению с ОТ-ПЦР. Применение данных тестов целесообразно только для установления этиологии групповых случаев заболеваний. Применение иммунохроматографических тест-систем целесообразно только при отсутствии условий для проведения исследований в стационарных лабораториях. Диагностические тест-системы на основе ИФА или иммунохроматографии с выявлением антигенов норовирусов не могут применяться для выявления норовирусов в объектах окружающей среды.

Таким образом, внедрение диагностических наборов на основе метода мультиплексной ПЦР-РВ в лабораториях системы эпиднадзора позволит улучшить качество эпидемиологических исследований и повысить долю кишечных заболеваний с установленной этиологией, а использование экспресс-тестов для выявления антигенов норовирусов позволяет своевременно установить причину и принять соответствующие противоэпидемические меры при возникновении вспышки заболевания. Учитывая высокую контагиозность норовируса и быстроту его распространения во время вспышки, использование в полевых условиях быстрых тестов, простых в применении и не требующих специального оборудования, может оказаться решающим фактором в своевременной организации санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий и предотвращении распространения инфекции.



ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ НОРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Лашинский С.В., Небредовский В.Н.

*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Норовирусная инфекция (острая гастроэнтеропатия, вызванная возбудителем Норволк) – антропоноз вирусной этиологии с преимущественно фекально-оральным и аэрозольным механизмом передачи возбудителя.

Острые кишечные инфекции (ОКИ) на протяжении многих десятилетий остаются в числе лидирующих болезней в мире и, несмотря на успехи медицины, по-прежнему занимают одно из ведущих мест в структуре инфекционной заболеваемости и продолжают представлять серьезную проблему здравоохранения XXI века во многих странах мира. В развитых странах заболеваемость ОКИ и смертность от них существенно меньше, чем в развивающихся (десятки миллионов случаев ежегодно), однако все равно приводит к тяжелым нагрузкам на системы здравоохранения и большим экономическим потерям.

Последние два десятилетия характеризуются ростом миграционных процессов, интенсивным развитием международного туризма, кардинальным изменением структуры питания и водопотребления, совершенствованием технологии производства, хранения и реализации пищевых продуктов. Все это вносит значительный вклад в распространение ОКИ и инфекционных болезней в целом, осложняя и усиливая все компоненты эпидемического процесса.

В структуре возбудителей ОКИ постепенно увеличивается доля вирусных инфекций, в том числе норовирусной этиологии.

В докладе ВОЗ 2015 года «Оценки глобального бремени болезней пищевого происхождения», который оценивает влияние 31 болезнетворного агента – бактерий, вирусов, паразитов, токсинов и химических веществ, говорится, что каждый год около 2 миллиардов человек заболевают болезнями пищевого происхождения и около 1 млн. 173 тысяч из них умирают. Из 1,848 миллиардов случаев диарейных инфекций на норовирусную инфекцию приходится более 646 млн. случаев заболеваний – самое большое количество в сравнении с любым из других микробиологических агентов. Большинство смертей среди диарейных заболеваний также приходится на норовирусную инфекцию – более 211 тысяч ежегодно.

Несмотря на позитивные изменения условий жизни населения, в последние годы в Российской Федерации наблюдается устойчивая тенденция к росту



заболеваемости острыми кишечными инфекциями, ежегодно регистрируется не менее 500 вспышек. Несмотря на достижения в области молекулярно-генетических исследований, существенно расширивших возможности диагностики возбудителей острых кишечных инфекций, удельный вес ОКИ неустановленной этиологии остается высоким.

По данным органов здравоохранения США норовирусы являются основной причиной как спорадических случаев, так и вспышек острого гастроэнтерита. Ежегодно регистрируется около 19-21 миллионов случаев заболевания острым гастроэнтеритом вызванным норовирусом, в том числе 56,000–71,000 из них нуждаются в госпитализации, и 570-800 случаев заболеваний заканчивается летальным исходом, при этом расходы на здравоохранение связанные с норовирусной инфекцией составляют примерно 760-780 млн долларов в год.

В последние годы НВИ имеет тенденцию к широкому распространению в мире и является одной из ведущих причин в формировании эпидемических очагов ОКИ с фекально-оральным механизмом передачи.

Наиболее эпидемически значимыми объектами остаются детские дошкольные и общеобразовательные учреждения, медицинские организации и другие организованные коллективы, в том числе воинские.

Длительная экскреция вируса и большое число бессимптомных форм способствуют поддержанию циркуляции вируса и стабильно высокому уровню спорадической и вспышечной заболеваемости.

Несколькими американскими учеными в 2016 году была разработана компьютерная модель для расчета затрат на лечение норовирусной инфекции во всем мире и социальных издержек в связи с инфицированием. Согласно собранным данным, ежегодно норовирусом инфицируется около 650-700 миллионов человек, а экономические затраты, связанные с норовирусной инфекцией, очень высоки - выше, чем для многих других ОКИ, в том числе ротавирусной этиологии. Ежегодно на лечение желудочно-кишечных заболеваний, вызванных норовирусом, тратится 4,2 млрд долларов, при этом социальные издержки, достигают 60,3 млрд долларов в год.

Таким образом, высокие показатели заболеваемости, ведущая роль норовирусов в возникновении вспышек острого гастроэнтерита, в том числе с летальными исходами, высокая скорость изменчивости норовируса, приводящая к возникновению и быстрому глобальному распространению новых эпидемических вариантов, отсутствие вакцины для профилактики и большой экономический ущерб определяют необходимость совершенствования системы эпидемиологического надзора за норовирусной инфекцией в Российской Федерации в целом и в Вооруженных Силах Российской Федерации в частности.



МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ НОРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Лашинский С.В., Небредовский В.Н.

*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Многие названия норовирусной инфекции часто происходят из названия области или региона, где произошла вспышка заболевания, например, вирус Торонто, вирус Гавайи или вируса Бристоль. Народные названия, такие как «вирус зимней рвоты» – winter vomiting disease, «желудочный грипп» – stomach flu в Великобритании, «кишечный грипп» – grippe intestinale – во Франции также встречаются.

В настоящее время заболевание, обусловленное норовирусами, занесено в МКБ-10 как острая гастроэнтеропатия, вызванная возбудителем Норволк (Блок A00-A09, A08.1).

Название норовирус получил по г. Норволк (Norwalk, Огайо, США), где в октябре-ноябре 1968 г. была зарегистрирована крупная вспышка острого гастроэнтерита среди учеников начальной школы, в которую были вовлечены около 1/2 детей и учителей школы и почти 1/3 лиц. На первом этапе лабораторного изучения данной вспышки охарактеризовать этиологический агент не удалось. В 1972 г. Karikian A.Z. с соавторами с помощью иммуноэлектронной микроскопии при исследовании фекальных образцов обнаружил вирус, который по решению Международного комитета по таксономии вирусов в 2002 г. получил название Norwalk virus.

В литературе можно встретить другие, ранее применявшиеся названия данного вируса - норволк-подобные вирусы (NLV), маленькие круглые структурированные вирусы (SRSV), вирусы Снежной горы.

Вирионы норовирусов представляют собой мелкие безоболочечные частицы с икосаэдрической симметрией (T=3) диаметром 27 нм с нечетким внешним краем. Молекулярная масса вириона составляет 15 МДа. Капсид состоит из 180 копий большого структурного белка VP1 (ORF2) с, 1 - 2 копий малого белка VP2 (ORF3) и белка VPg. Димеры VP1 образуют 90 дугообразных капсомеров. Капсомер устроен таким образом, что формирует видимые пустоты (чаши, углубления) размером 40 Å в глубину и 90 Å в ширину. Каждая вирусная частица имеет 32 таких чашеобразных углубления. Геном калицивирусов представлен однонитевой РНК позитивной полярности с молекулярной массой 2,6 - 2,8 мегадальтон, размером 7500 - 7700 пар нуклеотидных оснований.

Род норовирусов включает в себя более 40 различных штаммов, которые на основе сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей гено-



ма, подразделяются на 7 геногрупп (GI - GV GVII), из которых представители геногрупп I, VI и VII выделены исключительно от человека, III и V – только от животных (вызывают поражение желудочно-кишечного тракта у крупного рогатого скота – геногруппа III и некоторых видов грызунов – геногруппа V (1 генотип)), II и IV – от человека и животных (геногруппа II - свиней (3 генотипа), геногруппа IV – львов (2 генотипа) и собак (2 генотипа)). Геногруппы NB вариабельны и в зависимости от сходства генетических характеристик разделяются на генотипы, которые в свою очередь - на субгенотипы или геноварианты.

Норовирусы первой геногруппы (NVGI) обнаруживаются у заболевших норовирусным гастроэнтеритом в 0,6% - 17% случаев, чаще выявляются при спорадической заболеваемости и редко идентифицируются при вспышках норовирусной инфекции. Среди NVGI выделяют 8 - 16 генотипов.

Наиболее распространенной является геногруппа II норовирусов (NVGII). В структуре норовирусных гастроэнтеритов на долю NVGII приходится до 80% - 90%. NVGII являются основным этиологическим агентом вспышек НВГЭ во всем мире. Внутри геногруппы II идентифицируют 19 - 23 генотипа, причем норовирусы различных генотипов могут циркулировать одновременно. Вспышки заболевания могут быть вызваны разными генотипами NVGII. Наиболее распространенными являются генотипы GII-3 и GII-4.

Геногруппы GI и GII значительно различаются по нуклеотидной последовательности, кодирующей основной белок капсида (дивергенция около 60%). Различия между генотипами в пределах одной геногруппы характеризуются 20–30%ной дивергенцией.

Геногруппы VI, VII включают пока только единичные изоляты, выделенные от человека.

Норовирусы лишены оболочки, поэтому взаимодействие вируса с клеткой хозяина обеспечивается основным белком капсида. Для проникновения вируса в клетку необходимо его взаимодействие с полиморфными группами антигенов гистосовместимости (ABH histo-blood group antigens - HBGAs), расположенными на поверхности клеток кишечного эпителия и выступающими в качестве рецепторов. Известно не менее восьми различных рецепторных структур, взаимодействующих с вирусами разных штаммов и принадлежащих к антигенам групп A/B и Льюис (несекреторный тип). Так, вирусы геногруппы I преимущественно поражают лиц с группами крови A и O.

Функциональная роль белка VP2 точно неизвестна. Предполагается, что он участвует в регуляции экспрессии и стабилизирует структуру капсида.

Эволюция норовирусов происходит и с помощью рекомбинаций. Описаны три вида рекомбинаций – межгеногрупповые, межгенотиповые и межсубгенотиповые. Высокая вероятность возникновения рекомбинантных штаммов позволяет предположить возможную роль норовирусов животных в эволюции норовирусов человека. Эволюционные процессы, происходящие в популяциях



норовирусов, сопоставляют с эволюцией вируса гриппа, которая также происходит путем антигенного дрейфа и реассортации сегментов генома.

Норовирусы человека не культивируются в лабораторных условиях и изучение его жизненного цикла сильно затруднено, поскольку пока не удастся получить чувствительную к нему культуру клеток.

Норовирусы довольно стабильны и обладают высокой устойчивостью по отношению к физическим и химическим воздействиям, могут длительно сохранять инфекционные свойства (до 28 дней и более) на различных видах поверхностей и в хлорированной питьевой воде, обладают высокой устойчивостью к хлорсодержащим дезинфектантам, органическим растворителям (этанол, эфир и другие жирорастворители), ультрафиолетовому излучению и колебаниям температуры внешней среды (от температуры замерзания до 60°C). Норовирусы более резистентны к инаktivации хлором, чем полиовирус 1-го типа, ротавирус человека (штамм Wa) или бактериофаг f2. Норовирусы устойчивы к обработке свободным остаточным хлором в концентрации 0,5 - 1,0 мг/л, инаktivируются при концентрации 10 мг/л.

В ответ на инфицирование норовирусом в организме развивается иммунный ответ. Начальная стадия (до 4 ч) обеспечивается неспецифическим иммунитетом и направлена на распознавание, уничтожение и элиминацию норовирусов с помощью клеточных и гуморальных механизмов, находящихся в стадии готовности (англ. steady state). Поздний адаптивный ответ (спустя 96 ч) характеризуется клоноспецифическим распознаванием антигенов, активацией и клональной экспансией эффекторных клеток (Т- и В-лимфоцитов), в результате чего формируется специфический иммунный ответ и иммунологическая память.

Инфицирование норовирусами вызывает появление специфических сывороточных антител (IgG, IgM), а также через две недели после инфицирования наблюдается повышение в тонком кишечнике синтеза IgA, которые блокируют связывание вирусной частицы с рецепторами и препятствуют повторному инфицированию.

Существует две формы резистентности к норовирусам: краткосрочная и долгосрочная. При инфицировании индуцируется как краткосрочный (6 - 14 недель) так и долгосрочный (9 - 15 месяцев) гомологичный иммунный ответ, однако в течение более длительного времени (27 - 42 месяца). Повторные инфекции могут быть на протяжении всей жизни человека, что связано с большим разнообразием норовирусных штаммов и отсутствием кросс-деформированного или длительного иммунитета.

Существует генетически обусловленная штаммоспецифичная невосприимчивость к норовирусной инфекции (до 15% в популяции) связана с дефектом гена, кодирующего функциональную α -1,2-фукозилтрансферазу (FUT2), или других ферментов, регулирующих экспрессию определенных антигенов систем HBGAs на клетках слизистой оболочки кишечника.



ИННОВАЦИИ В ПОЛЕВОЙ МИКРОБИОЛОГИИ В РЕШЕНИИ ПРОБЛЕМ ЛИКВИДАЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ ЧРЕЗВЫЧАЙНЫХ СИТУАЦИЙ И В ВОЕННОЙ МЕДИЦИНЕ

Малышев В.В., Змеева Т.А., Сбойчаков В.Б.
*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Проблемы ликвидации последствий катастроф, наводнений, землетрясений и оказание помощи раненым и пораженным немислимы сегодня без полноценной микробиологической диагностики. Кто хорошо диагностирует, тот хорошо лечит. И здесь мы не можем не вспомнить о значимом вкладе военных микробиологов в клиническую и санитарную микробиологию.

В 2017 году отмечается юбилей – 135 лет со дня рождения выдающегося микробиолога, академика, профессора, генерал-майора медицинской службы Аристовского Вячеслава Михайловича. Его разработки по детекции анаэробных микроорганизмов и сегодня актуальны.

Участие наших специалистов в локализации и ликвидации эпидемических очагов в результате природных катастроф, требует оперативно проводить микробиологическую диагностику у пораженных и раненых, и также оценивать факторы риска распространения массовых инфекционных заболеваний. Географическое положение, климатические условия, отсутствие эффективной логистики доставки материала от пораженных, проб из объектов окружающей среды влечет за собой издержки в применении имеющихся сил и средств групп ликвидации последствий при проведении микробиологической диагностики в полевых условиях. В последние годы для этих целей разрабатываются, внедряются устройства, укладки, тест-системы, изготовленные в России.

Цель работы состояла в анализе и оценке возможности и диагностической ценности, имеющихся у отечественного производителя средств пробоподготовки и детекции патогенов, и их реальное применения в районах катастроф. Основной задачей было совершенствование пробоподготовки и отбор специфических микробиологических методов диагностики возбудителей бактериальной и вирусной этиологии в полевых условиях и чрезвычайных ситуациях.

Нами использовались новые подходы к пробоподготовке при оценке образцов из объектов внешней среды экспериментальными мембранами, мембранами с наведенным зарядом, мембранами из инновационных материалов, значительно повысило результативность, а также, возможность применять простые экспресс-тесты, такие как, иммунохроматографический метод, реакция агглютинации латекса, метод иммунофлюоресценции. Был применен метод мембранной фильтрации в тангенциальном потоке, что позволило увеличить количество детектируемых патогенов.



Таким образом, для клинической микробиологической диагностики, оперативной оценки эпидемиологической безопасности водных объектов окружающей среды, питьевой воды, продовольствия и другого материала, а также для установления этиологии острых кишечных инфекций в полевых условиях требуется внедрение перспективных, простых, специфических методов пробоподготовки и детекции с применением устройств, средств, способов, универсальных упаковок и реагентов.

ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ФИЛЬТРАЦИИ ВОДЫ И БАРЬЕРНАЯ РОЛЬ БЫТОВЫХ ФИЛЬТРОВ ДЛЯ БЕЗОПАСНОГО ВОДОПОЛЬЗОВАНИЯ НАСЕЛЕНИЯ

Мальшев В.В., Змеева Т.А., Бокарев М.А., Носкова Т.В.

*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Проблема качества потребляемой питьевой воды и здоровье населения – это связанные друг с другом понятия. На разных территориях Российской Федерации качество воды существенно различается. В источниках воды имеются загрязнения как природного, так и техногенного характера. Наибольшую опасность в России представляют загрязнение воды тяжелыми металлами, хлорорганическими соединениями и микробная контаминация.

К сожалению, в силу разных объективных причин, каждый второй житель России вынужден использовать для питьевых целей воду ненадлежащего качества, не соответствующую по ряду показателей санитарно-гигиеническим требованиям. Капитальные вложения в модернизацию водопроводно-канализационного хозяйства явно недостаточны. Основная причина низкого качества воды, поступающей из источников централизованного водоснабжения, заключается в изношенности коммуникаций и оборудования и устаревших методах очистки.

Если обратиться к мировому опыту, то на международном форуме «Мировая водная неделя 2010» в Стокгольме, Швеция, доктор Рита Колвелл (США), стала лауреатом Главного Стокгольмского Водного Приза 2010 года за разработку простых, доступных и эффективных методов очистки поверхностной воды от холерного вибриона в Индии. Оказалось, что старая ткань сари с таким же успехом задерживает содержащий бактерии холеры планктон, как и специально разработанные нейлоновые фильтры.

На конференции был представлен продукт для решения этой проблемы - пурифайер. Пурифайер состоит из двух частей: пластикового фильтра сверху и глиняного сосуда под ним, где хранится чистая вода. Грязная вода вначале



просачивается через простейший фильтр на верху конструкции, он состоит из восьми слоев ткани сари, натянутой на крышку-обруч и задерживает крупные бактерии и частицы грязи. Дальше вода идет через керамические свечи и фильтр с активированным углем, после чего попадает в глиняную емкость, где охлаждается натуральным образом.

Несмотря на то, что вода в реках у нас чище чем в Индии, однако она контаминирована микробами и паразитами. К примеру, в Республике Саха (Якутия) 70% населения продолжает жить в условиях децентрализованного водоснабжения, практически потребляя необработанную воду из рек и озер, которая забирается непосредственно с водоемов автоводовозным транспортом, что связано с риском заболеваний. Однако, и в более развитой, с точки зрения водоподготовки и водоотведения, европейской части России возможны и аварийные ситуации, когда происходит загрязнение питьевой воды канализационными стоками (г.Нижний Новгород, 2005 год). Как выставить необходимый барьер и недопустить заболеваемости населения, связанной с загрязнением воды.

Перечень экологических инновационных технологий водоподготовки в современных условиях необычайно велик. Здесь и мембранные технологии, использование осмоса, модульных конструкций из адсорбирующих загрузок, применение новейших коагулянтов и флокулянтов.

Для населения надежным барьером от потребления некачественной воды могут стать бытовые фильтры. В программе «Чистая вода» предусмотрено применение бытовых фильтров разной модификации. Диапазон возможностей очистки воды с их помощью крайне большой, однако, до настоящего времени открываются все новые возможности материалов, используемые в фильтрах.

Нами, с помощью разных методов проведены исследования возможности фильтрующего материала Арагон - микропористого ионообменного полимера, используемого в бытовых фильтрах разных марок, на бактериальных и вирусных моделях. Арагон позволяет комплексно удалять из воды широкий спектр вредных примесей: соли жесткости, железо, марганец, тяжелые металлы, хлор, механические частицы и органические соединения. Полимеры с пространственно-глобулярной структурой (ПГС) - полимеры - принципиально новые материалы, сочетающие в себе сразу три метода фильтрации: механический, сорбционный и ионообменный. Ни один из существующих материалов не дает очистки по такому широкому спектру химических соединений как ПГС-полимеры. ПГС-полимеры - это высокомолекулярные соединения. Их можно получить из самых разных мономеров: резорн, пирокатехин, гидрохинон, меламин, карбамид и др. В процессе синтеза ПГС-полимеров образуются микроглобулы - длинные полимерные цепочки, свернутые в клубок. Микроглобулы, соединяясь между собой, создают пористую и одновременно механически прочную структуру. Удаление механических примесей в основном идет в поверхностных слоях полимера. Размер пор может быть любым в диапазоне: 0,01-3,5 мкм. Изменяя условия синтеза можно получить нужную пористость материала с разбросом не более 10%.



Наиболее удобными в быту оказались трехступенчатые фильтры, где первая ступень - картридж механической очистки с размером пор до 5 мкм, для удаления взвешенных примесей (ил, ржавчина, песок, муть). Далее вторая ступень - уникальный ионообменный фильтропатрон Арагон с размером пор от 0,01 до 0,5 мкм, содержит серебро и третья ступень - угольный картридж из кокосового активированного угля для окончательного кондиционирования воды и удаления остаточного хлора и хлорорганических соединений, а также неприятного вкуса и запаха воды.

Нами проводилось исследование на Арагоне пяти модификаций – Арагон М (для мягкой воды), Арагон Ж (для жесткой воды), Арагон 2 (Арагон+ионообменная смола), Арагон 3 (Арагон+карбон-блок), Арагон Био (удаление из воды вредные примеси, бактерий и вирусов).

При изучении степени очистки воды от колиформных бактерий (кишечной палочки) картриджами Арагон использовался модельный тест - живая культура штамма E.Coli M17-NR. Этот штамм непатогенный (культура E.Coli M17 входит в состав лечебного препарата «Колибактерин»), имеет два маркера по хромосомным генам устойчивости к налидиксовой кислоте и рифамицину. Указанные гены устойчивости не передаются сопутствующей микрофлоре. Их наличие обеспечивает прямое обнаружение, идентификацию и количественный учет E.Coli M17-NR в чистой культуре на питательной среде Эндо, содержащей указанные антибиотики и полное отсутствие постоянной микрофлоры. Штамм E.Coli M17-NR предназначен для санитарно-бактериологических исследований, защищен авторским свидетельством (№ 1080480, автор – Сиволодский Е.П.). Установлена после экспозиции в течение месяца высокая барьерная функция картриджа Арагон. При микробной нагрузке воды кишечной палочкой (ситуация аварийной контаминации водопроводной воды канализационными стоками) кишечной палочкой (E.coli M-17-NR) – $9,5 \times 10^6$ КОЕ/мл картриджи бактерицидные к фильтру-кувшину «Грифон» снижают в 100000 – 1000000 раз исходную концентрацию кишечной палочки в воде: после фильтрации через интактный картридж, картридж после 50 л. воды, картридж после 200 л. воды, составляют соответственно – 10 КОЕ/мл; 60 КОЕ/мл; 10 КОЕ/мл. Картриджи, используемые после предварительной фильтрации 200 л. воды, оказывают антибактериальное действие не хуже, чем интактный картридж.

При апробации картриджей Арагон на вирусных моделях был получен устойчивый вирулицидный эффект, что можно объяснить электростатикой полимера и наличием разнонаправленного дзетта-потенциала Арагона и вирусных частиц.

Таким образом, подходы к использованию бытовых фильтров для недопущения заражения населения через воду, полностью подтверждены исследованиями картриджей Арагон разной модификации при бактериальной и вирусной контаминации воды.



МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДЕТЕКЦИИ МИКРОБНЫХ И ВИРУСНЫХ КОНТАМИНАНТОВ ВОДЫ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ МОНИТОРИНГОВЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В АКВАТОРИИ НЕВСКОЙ ГУБЫ

Мальшев В.В., Змеева Т.А., Перелыгин В.В.,
Клецко Л.И., Прошина Л.А.

*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Экосистемы Ладожского озера, реки Невы, Невской губы и восточной части Финского залива в течение многих лет подвергались загрязнению от различных антропогенных источников (сбросы биогенных веществ и токсичных соединений очистными комплексами, береговые сбросы промышленных объектов и сельского хозяйства, судоходство и т.п.). Объемы сточных вод, содержащих вредные вещества поступающих в водную систему крайне нерегулярны, варьируют во времени и пространстве, поэтому уровни загрязнения и качество вод существенно меняются. В результате нерационального хозяйствования, обострилась проблема чистой воды, которая, в основном, сводится к противоречию между возрастанием потребности в воде высокого качества и продолжающимся его ухудшением.

Объектом исследования служили данные натурных исследований проб воды, отобранных на гидролого-гидрохимических и санитарно-бактериологических станциях акваторий комплекса защитных сооружений (КЗС) от наводнений и Невской губы, за период наблюдения.

Цель работы. Анализ санитарно-вирусологического состояния водной среды в акватории Невской губы при проведении комплексного экологического мониторинга.

В процессе работы выполнялись санитарно-вирусологические лабораторные исследования методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Использовали ПЦР системы (ИнтерЛабСервис) – АмплиСенс ОКИ скрин-FL, АмплиСенс Rotavirus/Norovirus/Astrovirus-FL.

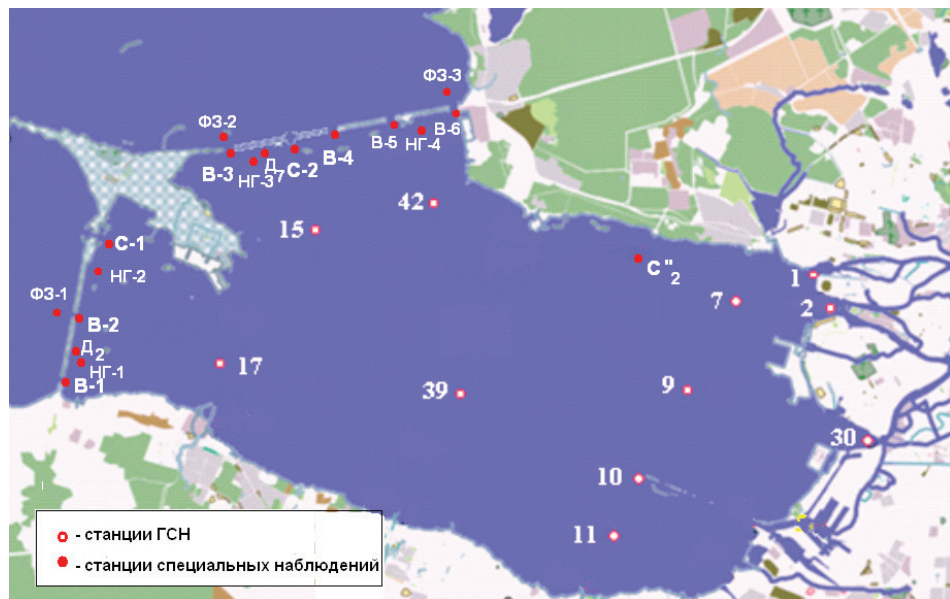
В результате многочисленных исследований санитарного состояния водоемов установлена контаминация кишечными вирусами отдельных участков изучаемых акваторий КЗС и Невской губы. Анализ результатов лабораторных исследований свидетельствует о перераспределении вирусного загрязнения в юго-западную часть акватории Невской губы, а значит и высокая контаминация кишечными вирусами будет сопровождать строительство портовых комплексов, связанное с намывом территорий в районе Бронки и Ломоносова, на участке Лисий Нос - Сестрорецк и др. Проведение больших по объему гидро-



технических работ, влечет за собой значительное техногенное воздействие на акваторию. Если к этому добавить сбросы станций аэрации, где, несмотря на значительные усилия по очистке и обеззараживанию сточных вод, еще имеются находки в достаточно больших количествах и кишечных бактерий, и кишечных вирусов.

Около 25% проб воды были контаминированы кишечными вирусами – ротавирусы, норовирусы и вирус гепатита А были основными загрязнителями изучаемых акваторий. Полученные результаты еще раз свидетельствуют о необходимости тщательного ведения санитарно-вирусологического мониторинга водной среды в акваториях Невской губы и восточной части Финского залива, а так же комплексных мер по снижению и техногенной и антропогенной нагрузки на указанные акватории, что должно привести к предотвращению дальнейшего ухудшения экологического состояния изучаемых акваторий.

Нами установлена вирусная контаминация юго-западной части акватории Невской губы, где ведутся большие по объему дноуглубительные работы и строительство порта. Значительная обсемененность проб воды кишечными патогенами вирусного происхождения на ст. 1, 2, может свидетельствовать о загрязнении Невы фекальными стоками не прошедшими полную очистку. При этом особую обеспокоенность вызывает контаминация вирусными патогенами южной, конкретней, юго-западной части (ст.17, В-1, В-2, С-1) и северной (ст.В-6) частей КЗС, северной части акватории Невской губы (ст.1 и ст.2).





СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭЛЮАТОВ ВОДЫ НА МАРКЕРЫ ВИРУСНОЙ КОНТАМИНАЦИИ

Малышев В.В., Змеева Т.А., Перелыгин В.В.,
Клецко Л.И., Прошина Л.А., Бокарев М.А.

*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Объектом исследования служили данные натурных исследований воды (элюаты) г.Череповца, отобранных из водоисточника (река Шексна), на входе в разводящую сеть и в разводящей сети МУП «Водоканал».

Цель работы состояла в анализе санитарно-вирусологического состояния водоисточника, оценке контаминации воды с проведением специфических иммунологических и молекулярно-биологических методов контроля проб воды, отобранных из водоисточника, на входе в разводящую сеть и в разводящей сети. В процессе работы выполнялись санитарно-вирусологические и молекулярно-биологические лабораторные исследования, оценивалось состояние водной среды водоисточника с обнаружением в нем кишечных вирусов.

В результате исследования элюатов воды за 12 месяцев была дана оценка контаминации кишечными вирусами водоисточника (река Шексна). Основные особенности работы заключаются в лабораторной проработке и оценке контаминации водоисточника вирусными патогенами с использованием молекулярно-биологических исследований.

Эффективность внедрения определялась дополнением в обязательный санитарно-микробиологический мониторинг воды поверхностных водоемов обнаружения маркеров вирусного загрязнения кишечными вирусными патогенами – вирусом гепатита А и ротавирусами, не только иммуноферментным методом, но и с применением молекулярно-биологических исследований с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени, что позволило установить наличие в водоисточнике вирус гепатита А и его генотип 1А. С точки зрения молекулярной эпидемиологии определен в воде р.Шексны и штамм G1 ротавирусов группы А. На входе в разводящую сеть и в разводящей сети – вирусная контаминация воды не была обнаружена. Молекулярно-биологические исследования выполнялись в лаборатории ПЦР.

Полученные новые данные позволяют дополнить систему экологического мониторинга в отношении вирусной контаминации водоисточника, что можно использовать для создания расширенного лабораторного контроля за состо-



янием водных объектов окружающей среды и изучению циркуляции кишечных вирусных патогенов в них.

Данные лабораторных исследований свидетельствуют о характерной для северо-запада эколого-эпидемической ситуации по кишечным вирусам, с циркуляцией вируса гепатита А (генотип 1А) и ротавирусов (штамм G1) и являются опорными для определения маркеров наиболее актуальных инфекций - вирусного гепатита А и ротавирусного гастроэнтерита. На длительность выживания энтеровирусов в воде влияет ее загрязнение органическими веществами, причем в загрязненной органическими веществами воде сроки выживания энтеровирусов увеличиваются. Избыточное количество бактерий в воде способствует более длительному выживанию энтеровирусов. Современные методы механической и биологической очистки не обеспечивают полного освобождения сточных вод от энтеровирусов в очищенных сточных водах, и они являются основным резервуаром кишечных вирусов в природе.

В связи с этим в настоящее время при повторной очистке сточных вод и их обеззараживании с помощью бесхлорных технологий (ультрафиолет, Дезавид, ПАКС и др.) можно достичь большей эффективности в снижении концентрации энтеровирусов и таким образом улучшения состояния водных объектов окружающей среды.

ИННОВАЦИОННЫЕ ПОДХОДЫ К САНИТАРНО-ВИРУСОЛОГИЧЕСКОМУ КОНТРОЛЮ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ И ГАРМОНИЗАЦИЯ ЕГО С МЕЖДУНАРОДНЫМИ ТРЕБОВАНИЯМИ

Малышев В.В.¹, Змеева Т.А.¹, Бокарев М.А.¹, Пеньковская Н.А.²

*¹Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург,*

*²Межрегиональное управление Федеральной службы по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
по Республике Крым и городу федерального значения Севастополю,
г. Симферополь*

Безопасность воды в эпидемиологическом отношении – это одна из актуальных проблем качества потребляемой питьевой воды, а источниками контаминации являются бактерии, вирусы, простейшие, паразиты и др. Однако ввиду эпидемиологического распространения кишечных инфекций вирусной



этиологии в поле зрения специалистов находятся именно патогены, вызываемые актуальные инфекции. В последние годы были зарегистрированы ряд водных вспышек острых кишечных вирусных инфекций (ОКВИ) и гепатита А (ГА) в ряде регионов (Нижний Новгород; Каменск-Уральский, Свердловская область; Нальчик и др.).

Проблема контаминации поверхностных и подземных вод вирусными патогенами носит повсеместный характер. Это еще раз подчеркивает важность санитарно-вирусологических исследований для оценки качества воды. Микробное, в том числе вирусное загрязнение питьевой воды, как централизованного, так и нецентрализованного водоснабжения, создает риск возникновения заболеваний населения кишечными инфекциями, прежде всего это – ротавирусная, норовирусная, астровирусная, энтеровирусные инфекции, гепатит А и другие.

На наш взгляд, дополнительным и очень информативным, в плане оценки качества воды, является использование результатов производственного контроля качества воды, который ведут аккредитованные лаборатории предприятий водоснабжения и водоотведения. В соответствии с Федеральным законом Российской Федерации от 7 декабря 2011 года №416-ФЗ «О водоснабжении и водоотведении»...“программа производственного контроля качества питьевой воды, горячей воды разрабатывается организацией, осуществляющей соответственно холодное водоснабжение или горячее водоснабжение, и согласовывается с территориальным органом федерального органа исполнительной власти, осуществляющего федеральный государственный санитарно-эпидемиологический надзор”. Программа производственного контроля качества питьевой воды, горячей воды включает в себя: 1) перечень показателей, по которым осуществляется контроль; 2) указание мест отбора проб воды, в том числе на границе эксплуатационной ответственности организаций, осуществляющих холодное водоснабжение, горячее водоснабжение, и абонентов; 3) указание частоты отбора проб воды. Именно на этапе согласования рабочих программ производственного контроля качества воды Управлениями Роспотребнадзора на территориях и можно скорректировать перечень показателей, точки отбора проб, кратность отбора проб воды.

Установлено, что возбудители вирусных кишечных инфекций обладают высокой устойчивостью в окружающей среде, что ведет практически к повсеместному распространению заболеваний, этиологически связанных с кишечными вирусами. Этапность и перечень проводимых последовательно лабораторных тестов подробно описаны в МУК 4.2.2029-05. Проведение первого этапа – концентрирование вирусов на разных носителях, позволяет в последующем использовать элюаты воды для обнаружения маркеров кишечных вирусов методом иммуноферментного анализа (ИФА), а также с учетом наличия в элюатах и вирусов, при необходимости уточнения генотипа, субгенотипа используется



полимеразная цепная реакция (ПЦР). В последние годы активно внедряется в лабораторную практику метод мультиплексной ПЦР, что в комплексе. Однако, по данным Агентства по охране окружающей среды (EPA), США, метод очень эффективный, к сожалению, есть и ложно положительные результаты (6%), и ложно отрицательные (14%). К этому приводит достаточно большое количество ингибиторов в исследуемой воде и аэрозолей, в том числе продуктов амплификации, в процессе постановки реакции.

Полученные данные по качеству воды в рамках санитарного надзора, являются базой для анализа изменения качества воды и оценки рисков контаминации последней кишечными вирусными патогенами. Здесь важным является соблюдение строго регламентированного порядка отбора проб и проведения исследования.

В существующих нормативных документах в настоящее время вирусная контаминация воды оценивается по обнаружению коли-фагов. Это общая практика и EPA, и Международной Организации по Стандартизации (ISO), и Центра Европейского Союза по Стандартизации (CEN EU). Агентство по охране окружающей среды осуществляет мониторинг более 90 загрязнений в питьевой воде в США и обязано дополнять этот список каждые пять лет 30 нерегламентированными загрязнениями в соответствии с законом о безопасности питьевой воды (Safe Drinking Water Act). В соответствии с дополнительным списком в перечень обязательных показателей будет введен и контроль двух вирусов.

Таким образом, основной целью санитарно-вирусологических исследований воды является оценка последней с точки зрения эпидемиологической безопасности для человека. Прямое обнаружение возбудителей актуальных кишечных вирусных инфекционных заболеваний в воде достоверно свидетельствует о наличии риска заболевания вирусными кишечными инфекциями городского и сельского населения. Эта позиция полностью соответствует приоритетным направлениям Научного совета по «Экологии человека и гигиене окружающей среды» Российской Федерации, где и ставится задача в разработке нормативно-методических документов в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения по предупреждению влияния на здоровье человека загрязнения, в частности, воды водных объектов и питьевой воды и гармонизацию санитарно-микробиологических показателей. Все выше сказанное будет способствовать снижению рисков заболеваний, передающихся через воду, и явятся важным звеном в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации, включая и соблюдение санитарно-эпидемиологических требований обеспечения безопасной среды обитания для здоровья человека.



ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА, КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ У ДЕТЕЙ В КРЫМУ

Малышев В.В.¹, Читакова А.Э.², Пеньковская Н.А.³

¹Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург,

²Республиканская детская инфекционная клиническая больница,

³Межрегиональное управление Федеральной службы по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
по Республике Крым и городу федерального значения Севастополю,
г. Симферополь

В структуре инфекций с фекально-оральным механизмом передачи в Крыму преобладали острые кишечные инфекции (ОКИ), вызванные установленными возбудителями (61,1%), в то же время, ОКИ неустановленной этиологии составили 31,7%, сальмонеллезные инфекции – 6,3%, бактериальная дизентерия – 0,4%, гепатит А – 0,5%. В 2015г. в регионе зарегистрировано 9885 случаев ОКИ (415,8 на 100 тыс. населения), что на 51,3% выше заболеваемости, зарегистрированной в 2014 г. (6457 случаев – 274,8 на 100 тыс. населения). Анализ возрастной структуры заболевших острыми кишечными инфекциями свидетельствовал, что самая высокая заболеваемость регистрируется среди детского населения – 64,7% (6398 случаев – 1544,3 на 100 тыс. населения) от всех заболевших. Удельный вес в структуре заболевших неорганизованных детей в 2015 г. составил 73,5% (в 2014г. – 75,2%), организованных детей – 10,1% (в 2014г. – 10,5%), школьников – 16,4% (2014г. – 14,3%).

На основании полученных данных заболеваемости установлена тенденция к росту ОКВИ в регионе. Этиологическая структура этих инфекций постоянно расширяется. Очевидно, что такая тенденция связана с постоянным расширением и усовершенствованием методов лабораторной диагностики, которые позволяют идентифицировать вирусы и их маркеры, высокой восприимчивостью детского населения к ротавирусам, норовирусам и возбудителям других вирусных ОКИ, и их повсеместной распространенностью. Удельный вес вирусных диарей в 2015 году увеличился в 2,2 раза и составил 17,8%, что на 6,5% выше по сравнению с 2014 г. Среди возбудителей ОКВИ преобладали ротавирусы (89,7%). Максимальные показатели заболеваемости регистрировались у детей в возрасте от 0 до 2-х лет (69,6%), минимальные – у детей 7-14 лет. Заболеваемость ротавирусной инфекцией (РВИ) регистрировалась практически на всех административных территориях полуострова. Это полностью соответствовало высокому ранговому месту этой инфекции и по Российской Федерации.



Нами в стационаре применялись, наряду с иммуноферментным методом (ИФА) и методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), и современные отечественные наборы реагентов для экспресс-диагностики ротавирусной, норовирусной и аденовирусной инфекций, разработанные на основе использования сенсibilизированных латексных частиц – реакция агглютинации латекса (РАЛ) и иммуно-хроматографические тесты (ИХА), разрешенные к применению в медицинских учреждениях на территории Российской Федерации. Эти наборы реагентов для экспресс-диагностики вирусных инфекций с помощью РАЛ и ИХА, разработанные и выпускаемые ЗАО «ЭКОлаб» (г. Электрогорск Московской обл.) показали высокую чувствительность и специфичность – для «Ротаскрин-латекс-тест» - 100% и 99,6%, соответственно, и для «Аденоскрин-латекс-тест» - 98% и 99%, соответственно, эти результаты были получены ранее, при выполнении большого количества больных. Значимую роль в координации изучения и организации санитарно-эпидемиологического надзора за острыми кишечными инфекциями выполняет Межрегиональное управление Роспотребнадзора по Республике Крым и г. Севастополю).

Таким образом, расширение лабораторных возможностей этиологической расшифровки возбудителей ОКВИ и их маркеров (ротавирусного, аденовирусного и др. антигенов в фекалиях пациентов) с помощью методов реакции агглютинации латекса и иммунохроматографического анализа позволяет сократить время диагностики до 5-10 минут и не требует практически дорогостоящего лабораторного оборудования. Возможно применение этих тестов обученными медицинскими сестрами лечебных учреждений по международной системе РОСТ (Point-of-care-testing).

РАЗРАБОТКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОДНОВРЕМЕННОГО ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К ОСНОВНЫМ ВОЗБУДИТЕЛЯМ TORCH-ИНФЕКЦИЙ В ФОРМАТЕ ЛИНЕЙНОГО ИММУНОБЛОТТИНГА

Марданлы С.Г.^{1,2}, Арсеньева В.А.¹, Амелина Е.А.¹, Марданлы С.С.¹

¹Закрытое акционерное общество «ЭКОлаб»,

г. Электрогорск,

²Государственный гуманитарно-технологический университет,

г. Орехово-Зуево

Для оперативного обследования контингентов населения из групп риска в отношении инфекций TORCH группы и обеспечения стандартов оказания медицинской помощи беременным женщинам по профилю «акушерство



и гинекология» (Приказ МЗ РФ № 572н от 01.11.2012) необходимо проводить регулярное обследование методом ИФА с целью определения маркеров инфицирования каждым возбудителем в отдельности.

Цель. Осуществить разработку отечественного набора реагентов для одновременного выявления антител разных классов к основным возбудителям инфекций TORCH группы.

Результаты исследования. В качестве основы создания нового отечественного теста («Лайн-Блот TORCH-профиль») была выбрана технология мультипараметрического исследования в линейном иммуноблоттинге (ЛИБ). Были разработаны: оригинальный формат иммуносорбента, представляющего собой нитроцеллюлозную мембрану с нанесенными на нее 5 поперечными линиями антигенов (очищенные нативные антигены *Toxoplasma gondii* и Rubella virus зарубежного производства, а также высокоспецифичные рекомбинантные аналоги антигенов CMV, HSV-1 и HSV-2 собственного производства), и необходимые растворы реагентов (разводящий, субстратный и промывающий растворы, конъюгат, стоп-реагент). Комплектация набора №1 предназначена для определения антител класса G, а комплектация №2 – антител класса M. Иммуносорбент в комплектации №1 дополнительно содержит рекомбинантный антиген *T. gondii* p30 (для исключения первичной инфекции за последние 3 месяца) и контроль защитного уровня гуморального иммунитета к краснухе (Ru-Cut off).

Диагностическую эффективность опытно-экспериментальных серий нового набора изучали в сравнительных испытаниях на 1115 образцах контрольных материалов отечественных производителей, а также клинических образцах крови по отношению к результатам их исследования в ИФА с наборами, разрешенными к применению в России. При этом установлены высокие показатели диагностической эффективности нового набора в комплектации №1 (98,5%) и №2 (72%). При противоречивых результатов в ЛИБ и ИФА сыворотки дополнительно тестировали с реагентами зарубежного производства («Recomline TORCH Screening», Германия); было получено полное тождество результатов с 2 наборами реагентов для ЛИБ.

Заключение. Новый отечественный набор реагентов «Лайн-Блот TORCH-профиль» завершил процедуру государственной регистрации в России (ПУ № РЗН 2017/5248 от 13.01.2017) и в качестве эффективного импорт замещающего теста, может быть рекомендован для скрининга населения на инфицированность возбудителями TORCH группы.



ОРГАНИЗАЦИЯ ПРОИЗВОДСТВЕННОГО ВЫПУСКА ДЕФИБРИНИРОВАННОЙ КРОВИ БАРАНА ДЛЯ ОБОГАЩЕНИЯ ПИТАТЕЛЬНЫХ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕД

Марданлы С.С., Бахилина Н.В., Котляр М.А., Ротанов С.В.
*Закрытое акционерное общество «ЭКОлаб»,
г. Электрогорск*

При обогащения микробиологических сред для культивирования и изучения свойств бактериальной микрофлоры в медицинских учреждениях используют кровь разных домашних животных. Наиболее часто в прежние годы для этого использовали кровь баранов, содержащихся в специализированных вивариях при медицинских лабораториях.

Цель. Разработка технических условий получения, обработки и производственного выпуска крови барана дефибринированной в качестве медицинского изделия для использования в лабораториях медицинских организаций России.

Результаты. Комплексное изучение процесса естественного воспроизводства объема циркулирующей крови у овец и баранов после донации позволило определить щадящие физиологические условия их питания и ухода за животными, содержащимися на производственном предприятии для регулярного использования их в качестве доноров венозной крови. Отработана технология удаления фибрина из полученной венозной крови путем осаждения на стерильных стеклянных гранулах без повреждения эритроцитов и определен состав стабилизирующих добавок, обеспечивающих длительное хранение полученной дефибринированной крови.

Испытание 5% кровяного агара, приготовленного на основе питательного агара с добавлением разработанной формы выпуска дефибринированной крови барана, позволило установить его высокое качество и пригодность для культивирования микроорганизмов, требующих для роста присутствия компонентов крови животных (*St. aureus*, *Str. pneumoniae*, *Str. pyogenes*, *Ent. faecalis*, *S. agalactiae*, *Cl. perfringens*, *L. monocytogenes*). Добавка в виде дефибринированной крови барана обеспечивает адекватные условия для визуальной оценки гемолитической активности культивируемых микроорганизмов (альфа-, бета- или гамма-гемолиз). Альтернативным вариантом выпуска этого реагента разработан формат дефибринированной крови барана с добавлением цитрата натрия.

Заключение. «Кровь баранья дефибринированная для питательных сред стерильная» по ТУ 9389-073-70423725-2007 разрешена к применению в меди-



цинских организациях России (ПУ № ФСР 2008/03081 от 30 июля 2008) для обогащения плотных питательных сред и определения гемолитической активности культивируемых микроорганизмов. Кровь баранья дефибринированная для питательных сред стерильная (комплектация №1) имеет срок годности 14 суток, а при добавлении цитрата натрия (комплектация №2) срок годности увеличивается до 30 суток.

ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ MORAXELLA CATARRHALIS И PSEUDOMONAS AERUGINOSA ПРИ ОСЛОЖНЕННЫХ ФОРМАХ ЛЕГОЧНОЙ ПАТОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА

Мирсаяпова И.А., Хакимова Л.Р., Адиятуллин И.И.,
Файзуллина А.Р., Иванова С.С.

*Башкирский государственный медицинский университет,
г. Уфа*

Инфекционная патология органов дыхательной системы человека остается одной из наиболее актуальных проблем, поскольку занимает четвертое место среди причин летальных исходов, приводит к инвалидности и лидирует по числу дней нетрудоспособности у заболевших [1]. Спектр этиологически значимых бактериальных патогенов при инфекционных поражениях воздухоносных путей чрезвычайно широк, в частности при внебольничных пневмониях в мокроте обнаруживают *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, реже – *M.catarrhalis* и *P.aeruginosa* [2]. Однако негативный вклад указанных микроорганизмов в развитие осложнений в виде хронического бронхита, хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) или бронхиальной астмы (БА) не ясен, поскольку их выявляемость на фоне лечения существенно снижается и может не определяться методом детекции возбудителя [3].

Цель работы. Оценка частоты встречаемости *M.catarrhalis* и *P.aeruginosa* при осложненных формах патологии органов дыхательной системы и использовании полимеразной цепной реакции, не предполагающей выделения чистой культуры возбудителя.

Для выделения ДНК использованы стандартные наборы, амплификация проводилась с применением подобранных нами праймеров и режимов, с электрофоретической детекцией результатов [3].



В результате было исследовано 190 образцов мокроты пациентов пульмонологических отделений. У 114 (60%) пациентов при осложненных формах дыхательной патологии обнаружена ДНК *M. catarrhalis*, из них: в 33,3% случаев при затяжной внебольничной пневмонии, в 22%, 22,8% и 21,9% случаев при бронхите, ХОБЛ и БА соответственно. В 70 образцах мокроты была обнаружена ДНК *P. aeruginosa*, из них: в 30% случаев при затяжной внебольничной пневмонии, в 35,8%, 17,1% и 17,1% случаев при бронхите, ХОБЛ и БА соответственно.

Таким образом, *M. catarrhalis* обнаруживались достоверно чаще при затяжной внебольничной пневмонии, ХОБЛ и БА. Однако у пациентов, у которых обнаруживалась ДНК *P. aeruginosa*, заболевание характеризовалось более тяжелым клиническим течением.

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО ГОМЕОСТАЗА ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

Москалев А.В., Косильникова А.С.

*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Современное течение туберкулезной инфекции отличается выраженной супрессией активности иммунной системы. Это отражается на механизмах фагоцитоза, на активности эффекторных иммунокомпетентных клеток. Однако целостного представления об изменениях клеточных, гуморальных факторов иммунной системы не приводится. Поэтому целью нашей работы было отразить основные изменения иммунной системы при туберкулезе.

Так во многих работах отражается способность *M. tuberculosis* ингибировать процесс слияния лизосомы и фагосомы макрофага после ее захвата, что препятствует развитию специфического иммунного ответа. В результате этого у больного развивается хроническое системное воспаление. Установлено, что при нарушении слияния фагосомы и лизосомы внутри макрофага, вызванного инфицированием *M. tuberculosis*, происходит изменение фагоцитарных реакций: «процессинг» и представление антигена другим клеткам иммунной системы не осуществляется, «классический» иммунный ответ на внедрение микобактерии не развивается. Это позволяет патогену долгое время находиться в «тени» и размножаться, используя макрофаг в качестве экологического депо. Кроме того, количество тканевых макрофагов, способных к фагоцитозу снижено от 18,5% до 24,7%. Важным нарушением метаболизма макрофагов является снижение синтеза супероксиданиона в ответ на стимуляцию в 35,6% случаев.



Интересно отметить, что такие изменения не влияли на количество моноцитов крови, абсолютные значения у здоровых и больных людей значимых отличий не имели.

Похожие изменения происходили и с нейтрофилами. Так установлено, что количество полиморфноядерных клеток у больных было снижено от 21,4% до 34,7%. Изучение фагоцитирующих свойств нейтрофилов показало снижение числа активных клеток от 16,2% до 34,2%. Значительные отклонения наблюдались и при изучении функционально-метаболического потенциала клеток. Резервные возможности продукции супероксиданиона, используемого для разрушения патогена, были снижены у больных от 23,6% до 36,2%.

Со стороны лимфоцитов отмечалось достоверное снижение количества этих клеток. В частности, отмечалось снижение числа Т-лимфоцитов на 15,1%. Другим важным фактом, который установлен, было снижение количества всех субпопуляций Т-клеток. Абсолютное количество Т-хелперов уменьшалось от 7,5% до 22,6%. Количество Т-цитотоксических клеток также было пониженным на 26,7% по сравнению с донорами. Также установлена тенденция снижения количества Т-киллеров. Со стороны В-лимфоцитов было снижение количества клеток в среднем на 42,7%. Такие изменения вполне объяснимы и связаны со снижением числа Т-хелперов ($CD4^+$), которые вместе с цитотоксическими Т-лимфоцитами ($CD8^+$) сенсибилизируются, выделяя хемотоксины и цитокины. Поэтому при их сниженном количестве не вызывают значительного притока макрофагов, повышения их бактерицидной активности, а также не способствуют увеличению популяции В-лимфоцитов, как это должно происходить в условиях адекватной реакции иммунной системы. Сходные изменения были выявлены и со стороны популяции NK-клеток. Количество клеток также было снижено в среднем на 18,6%.

Таким образом, течение туберкулезной инфекции характеризуется значительным снижением числа и функционально-метаболической активности фагоцитов крови, выраженным уменьшением количества основных субпопуляций лимфоцитов, подавлением воспалительной реакции.

Выводы. 1. Проточная цитофлюориметрия позволяет оценить степень изменения функционально-метаболической активности фагоцитов у больных с туберкулезом и служит инструментом для оценки состояния больного.

2. Туберкулез легких, сопровождающийся формированием туберкуломы, характеризуется значительным снижением числа и функционально-метаболической активности фагоцитов крови, выраженным уменьшением количества основных субпопуляций лимфоцитов, подавлением воспалительной реакции.

3. Отмечаются значительные гендерные различия в реакции иммунной системы на туберкулому легкого, причины которых в настоящее время обсуждаются.



МИКРОБНЫЙ СОСТАВ БИОПЛЕНОК РАН

Нагибович О.А., Бунтовская А.С., Иванов И.А., Пелешок С.А.,
Болахан В.Н., Протасов О.В., Шевелева В.С., Титова М.В.
*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Одним из актуальных вопросов современной медицины является проблема образования биопленок на раневой поверхности. Формирование биопленки на поверхностях тканей организма ведет к длительной персистенции возбудителя, рецидивирующему течению заболевания и неэффективности антибактериальной терапии.

Биопленки представляют собой сообщество sessильных (оседлых) форм клеток, продуцирующих внеклеточный матрикс, который способен удерживать их между собой и на поверхности раны. Регуляция жизнедеятельности клеток и координация экспрессии генов, роста, миграции клеток, переход из sessильной формы в планктонную происходит за счет системы межклеточного обмена (quorum sensing) информацией и электрических сигналов. Благодаря особой организации жизнедеятельности, микроорганизмы, находясь в биопленке, являются устойчивыми к антибактериальным препаратам, дезинфектантам, фагоцитозу и факторам иммунной системы человека.

Данные многочисленных исследований доказывают, что образование биопленок в ранах играет существенную роль в процессе заживления ран и значительно затрудняет лечение. Частота обнаружения биопленок в острых ранах составляет 16% и в 60% - 80% случаев среди хронических ран. Диабетические, венозные язвы, раны области хирургического вмешательства и пролежни составляют большинство хронических ран (отсутствие процесса заживления в течение 30 и более дней), встречающихся в повседневной практике. В подавляющем большинстве случаев хронических ран биопленки существовали в форме мультивидовых сообществ. При исследовании 50 пациентов с венозными язвами в 94,4% случаев обнаруживалось более 1 вида бактерий, в 76% два и более. Наиболее часто обнаруживался *S. aureus* (93,5%), *E. faecalis* (71,7%), *P. aeruginosa* (52,2%), коагулазо-негативные стафилококки (45,7%), различные виды протей (41,3%) и анаэробы (36,1%). Раны, инфицированные *P. aeruginosa* имели достоверно большие размеры.

Осложнения ран, связанные с образованием биопленок, остаются одной из острых проблем военной медицины. При проведении исследования случай-контроль 235 бактериальных образцов из ран личного состава военнослужащих США, достоверными факторами риска развития биопленок в ранах явились: наличие бактериальной флоры в ране, полирезистентность микроорганизмов, переливание крови в течение 24 часов после ранения, анатомическая локали-



зация раны, присутствие нескольких видов микробных агентов. При анализе ран на наличие микрофлоры выяснилось, что наиболее часто высевались *A. baumannii* и *P. aeruginosa*, за ними следовали *E. coli*, *K. pneumoniae* и *S. aureus*. Изоляты, в которых были выделены *A. baumannii* и *K. pneumoniae* чаще других имели полирезистентность к антибиотикам.

В настоящее время наиболее эффективными являются комплексные методы лечения ран с биопленками, включающие обязательную частую механическую очистку раны совместно с использованием раневых покрытий, антимикробных препаратов или применением местных антибиотиков для предотвращения реинфицирования раны и снижения риска повторного образования биопленок. Воздействие на биопленки может быть направлено на ингибирование механизмов адгезии бактерий к поверхности, нарушение синтеза или разрушение полимерного матрикса, блокирование quorum sensing, применение антимикробных препаратов и антибиотиков. Исследования влияния низкочастотного ультразвука на *Pseudomonas aeruginosa* показывают увеличение эффективности антибактериальной терапии аминогликозидами.

Таким образом, биопленки ран являются проблемой для современного здравоохранения и требуют совершенствования современных методов диагностики их микробной составляющей для последующей эффективной борьбы с ними.

ИССЛЕДОВАНИЕ ИНГИБИТОРНЫХ СВОЙСТВ 5-АМИНО ПРОИЗВОДНЫХ УРАЦИЛА В ОТНОШЕНИИ АДЕНОВИРУСОВ ЧЕЛОВЕКА

Никитенко Н.А.¹, Гуреева Е.С.³, Джаруллаева А.Ш.¹,
Прасолов В.С.², Новиков М.С.³, Логунов Д.Ю.¹

¹ Научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи,

² Институт молекулярной биологии
имени В.А. Энгельгардта Российской академии наук,
Москва,

³ Волгоградский государственный медицинский университет,
г. Волгоград

Актуальность. Аденовирусы человека (HAdV) – безоболочечные вирусы, геном которых представлен линейной несегментированной двухцепочечной ДНК. Особенную опасность аденовирусные инфекции представляют для людей с нарушениями иммунной системы: заболевания протекают более



тяжело и могут привести к летальному исходу. Недостаточная эффективность существующих подходов к лечению аденовирусной инфекции определяет необходимость разработки новых терапевтических средств. Было показано, что замещенные аналоги пиримидиновых нуклеозидов обладают противовирусной активностью, например, 1-бензил-5-(ариламино) производные урацила активны в отношении ВИЧ-1 и вируса Эпштейна-Барр.

Целью исследования является синтез и исследование противоаденовирусной активности новых 5-амино производных урацила.

Материалы и методы. Цитотоксичность синтезированных 5-амино производных урацила в диапазоне концентраций 2,5-200 мкМ для клеток линий Н1299 и НЕК293 оценивали с помощью методов прижизненного окрашивания данных клеток бромидом 3-[4,5-диметилтиазол-2]-2,5-дифенилтетразолия (МТТ) или трипановым синим через 48 ч после внесения веществ.

Было протестировано действие синтезированных соединений на репликацию аденовирусов. Клетки линии Н1299 заражали HAdV 5 с множественностью инфекции 1 БОЕ/клетку. Через 3 ч после инфекции добавляли z380, z383, z384, и z446 в концентрациях 0,5, 2,5, 5, 10, 15 и 25 мкМ. В качестве отрицательного контроля использовали ДМСО. Концентрация ДМСО во всех образцах не превышала 0,1%. Через 24 ч ингибиторную активность соединений оценивали по определению количества копий генома HAdV 5 методом количественной ПЦР. Кроме того, было исследовано влияние 5-амино производных урацила z380 и z383 на титр аденовирусного потомства при заражении клеток линии НЕК293 рекомбинантным аденовирусом типа 5 человека, экспрессирующим eGFP (HAdV 5-eGFP). В ходе эксперимента также была оценена выживаемость клеток линии НЕК293, зараженных HAdV 5-eGFP, в присутствии веществ z380 и z383 методом МТТ.

Результаты. Исследуемые соединения не оказывали токсического действия на клетки линий Н1299 и НЕК293 в эффективных концентрациях. Были определены концентрации, при которых количество живых клеток под действием 5-амино производных урацила сокращается на 50% (ЦТД₅₀). С этой целью проводили подсчет клеток, селективно окрашенных трипановым синим, через 48 ч после добавления соединений. ЦТД₅₀ составляла 47,6 мкМ, 53,6 мкМ, 103,1 мкМ и 64,8 мкМ для z380, z383, z384 и z476 соответственно.

Было показано, что исследуемые соединения подавляют репликацию аденовирусов человека. Концентрация полумаксимального ингибирования (ИД₅₀) для z380, z383, z384 и z476 составляла 0,5 мкМ, 9,2 мкМ, 8,7 мкМ и 13,1 мкМ соответственно, а индекс селективности 5,8, 95, 11,9 и 4,9 соответственно. Кроме того, наблюдали снижение титра вирусного потомства HAdV 5-eGFP под воздействием указанных веществ. Титр потомства HAdV 5-eGFP в клетках линии НЕК293 под действием z380 и z383 составлял $5,1 \times 10^3$ и $2,3 \times 10^3$ по сравнению с 1×10^4 в контрольном образце.



Также в ходе эксперимента была оценена выживаемость клеток линии НЕК293, зараженных HAdV 5-eGFP, в присутствии веществ z380 и z383. Через 48 ч по данным теста МТТ выживаемость клеток при множественности инфекции 1 БОЕ/клетку составляла в среднем 50% и 44% под действием z380 и z383 соответственно, а при множественности инфекции 10 БОЕ/клетку – 74% и 59% в присутствии веществ z380 и z383 соответственно.

Выводы. Таким образом, мы показали, что 5-амино производные урацила являются ингибиторами репликации аденовирусов человека. В перспективе на основе данных соединений могут быть разработаны лекарственные средства для лечения заболеваний, вызываемых аденовирусами. Работа поддержана грантом Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых - кандидатов наук (грант МК-1746.2017.7).

МОНИТОРИНГ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ НЕФЕРМЕНТИРУЮЩИХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ В АКУШЕРСКОМ СТАЦИОНАРЕ

Омарова С.М., Моллаева А.М., Ахмедова Р.С.

*Дагестанский государственный медицинский университет,
г. Махачкала*

К возбудителям инфекций связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) принято относить микроорганизмы, которые приспособились к постоянному обитанию в условиях стационара. Наиболее часто такими возбудителями являются бактерии циркулирующих в пределах стационара, и зависит от популяции пациентов, локализации инфекции, практики применения антибиотиков, а также методов контроля. В последнее время одно из лидирующих мест среди возбудителей ИСМП в стационарах занимают грамотрицательные бактерии и в частности *Pseudomonas aeruginosa*. В этиологии госпитальных инфекций существенно возросла роль полирезистентных микроорганизмов.

Целью настоящего исследования было изучение этиологической значимости *P.aeruginosa* в возникновении инфекционных осложнений у пациенток акушерского стационара. Выявить различия в активности антисинегнойных препаратов в отношении выделенных штаммов *P.aeruginosa*.

Материалы и методы. Изучено 29 штаммов, изолированных из различного материала (мокрота, раневое отделяемое, пробы мочи) забор и посев исследуемого материала проводили по приказу МЗ СССР от 22.04.85 №535 «Об унификации микробиологических методов исследования, применяемых в



клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». Анализ данных чувствительности *P.aeruginosa* к антибиотикам (амикацину, цефтазидиму, цефепиму, имипенему, меропенему, пиперациллину и азитромицину) проводили диско-диффузионным методом согласно МУК 4.2.1890-04.

Наиболее частым возбудителем ИСМП в обследованном акушерском стационаре, по нашим данным, являлась синегнойная палочка. Она выделялась в 34,6% случаев. В 22 случаях нозокомиальная инфекция имела полимикробную этиологию. Частота микст-инфекций составила 13,5%. *P.aeruginosa* была выделена из раневого отделяемого – в 19 (13,5%) клинических пробах, из мокроты и трахеобронхиального аспирата – в 21 (14,3%) случаях, из крови в 6 (4,1%) образцах, реже микроорганизм выделялся при микробиологическом исследовании мочи – в 4 (2,7%) случаях.

Большое значение для клиники имеет мониторинг антибиотикочувствительности грамотрицательных неферментирующих бактерий, так как *P.aeruginosa* и другие играют значительную роль в этиологии ИСМП нижних дыхательных путей, мочевыделительной системы и послеоперационных инфекционных осложнений.

Результаты определения чувствительности *P.aeruginosa* к антибиотикам с антисинегнойной активностью, выявили наименьшую активность пиперациллина и азитромицина (72,8% - 69,1% резистентных культур, соответственно). К цефтазидиму устойчивость составила 4,9%, к цефепиму – 8,2%. К имипенему были устойчивы 19,4% штаммов, меропенему – 7,6%, амикацину - 14,1%, ципрофлоксацину – 25,3%. Характерно, что отмечался высокий уровень резистентности *P.aeruginosa* к гентамицину более 53,6% выделенных культур.

Установлено, что *P.aeruginosa* чаще была причиной инфекционных осложнений области послеоперационной раны, несколько реже дыхательных путей и мочевыделительной системы. К препаратам наибольшей активности в отношении протестированных штаммов *P.aeruginosa* относятся цефтазидим 91,4% шт., цефепим – 89,5% шт., меропенем – 93,6% шт. и амикацин – 81,2% культур. Несколько ниже активность у имипенема – 87,2% шт., ципрофлоксацина – 74,9%. К препаратам с низкой активностью в отношении выделенных штаммов следует отнести пиперациллин и азитромицин – 19,2% и 25,6% соответственно.

Известно, что *Acinetobacter* spp. обладает природной резистентностью ко многим АМП. Традиционно активностью в отношении *Acinetobacter* spp. обладают карбапенемы. Максимальной активностью в отношении выделенных штаммов характеризовались цефоперазон/сульбактам, имипенем и меропенем. Нечувствительными к ним были 8,9; 9,2 и 13,4% штаммов соответственно. Устойчивыми к пиперациллину были – 83,9% культур *Acinetobacter* spp.

Из цефалоспоринов наибольшей активностью обладали цефепим и цефтазидим: нечувствительными к ним были 59,8 и 64,2% штаммов соответ-



ственно. Самой низкой активностью в отношении внутрибольничных штаммов *Acinetobacter* spp. обладал цефоперазон – нечувствительными к нему были 86,4% штаммов.

Изучение антибиотикограммы выделенных штаммов *Acinetobacter* spp. показало, что левофлоксацин проявлял несколько более высокую активность по сравнению с ципрофлоксацину, процент нечувствительных штаммов составил 36,7 и 44,1% соответственно. Амикацин был более активен в отношении выделенных культур, чем гентамицин, нечувствительными к амикацину были 41,8%, к гентамицину – 65,7% культур из всех протестированных штаммов ацинетобактеров.

Выводы. Резистентность *P.aeruginosa* и *Acinetobacter* spp. возбудителей инфекций связанных с оказанием медицинской помощь в акушерском стационаре остается серьезной проблемой. Рост количества грамотрицательных неферментирующих бактерий в структуре возбудителей госпитальных инфекций в обследованном акушерском стационаре осложняет проведение эффективной антибактериальной терапии в связи с высокой частотой резистентности псевдомонад и ацинетобактеров к большинству антибиотиков.

В связи с ростом уровня резистентности у основных возбудителей ИСМП, необходимо регулярно проводить мониторинг и корректировать политику применения антимикробных препаратов в каждом стационаре на основании индивидуальных результатов определения чувствительности изолятов к препаратам.

СОЗДАНИЕ 3D МОДЕЛИ БЕЛКА NS3 ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

Островерхова Д.С.

Саратовский государственный медицинский университет

имени В.И. Разумовского,

г. Саратов

Одной из самых распространенных и опасных инфекций лесной зоны России является клещевой энцефалит (семейство *Flaviviridae*). Вирус передается преимущественно членистоногими (клещами и комарами), вызывая у человека острое инфекционное заболевание, характеризующееся лихорадкой, интоксикацией и поражением центральной нервной системы. Изучение структуры белков данного вируса позволит установить необходимые составляющие для нормального функционирования его жизненного цикла. Известно 3 субтипа вируса: дальневосточный, европейский и сибирский. Установлено, что вирус



клещевого энцефалита дальневосточного субтипа вызывает наиболее тяжелые формы заболевания с летальностью до 20-35%. Геном вируса содержит семь неструктурных белков (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B и NS5). Белок NS3 является необходимым компонентом в репликации жизненного цикла вируса. Для исследования был выбран высокопатогенный штамм Dalnegorsk дальневосточного субтипа.

Цель работы. Построение трехмерной структуры белка NS3 из вируса клещевого энцефалита штамма Dalnegorsk.

Поиск структурных доменов белка, необходимых для его функционирования, проводили с использованием компьютерных программ и баз данных. Аминокислотная последовательность белка NS3 вируса клещевого энцефалита штамма Dalnegorsk была получена из банка данных NCBI в формате FASTA (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez>) ID: ACJ38115.

Используя BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) был произведен поиск структурно сходных последовательностей. Парные выравнивания проводили на сервере GeneBee-Molecular Biology Server (<http://www.belozersky.msu.ru>) с помощью программы AliBee-Multiple alignment.

Поиск кристаллических структур производился на сервере PROTEIN DATA BANK (<http://www.rcsb.org>). Для моделирования по гомологии использовался сервис SWISS-MODEL (<http://swissmodel.expasy.org/>), с созданием файла-project в программе Swiss-PdbViewer (<http://kr.expasy.org/spdbv/>). С помощью UCSF Chimera (<https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>) произведена визуализация полученной модели.

Для определения структурных доменов вирусного белка NS3 использовали базу данных белковых семейств Pfam (<http://pfam.sanger.ac.uk/search>).

Результаты. Установлено, что в настоящее время нет трехмерной модели белка NS3 из штамма Dalnegorsk Protein Data Bank. Белок имеет длину в 3414 а.о. При поиске родственных последовательностей в BLAST наиболее высокую идентичность показала последовательность белка NS3 вируса Денге. Кристаллическая структура NS3 из вируса Денге доступна разрешением в 2,2 Å (Protein Data Bank: 2WHX) и была использована в качестве структуры шаблона для создания 3D модели. С помощью сервера SWISS-MODEL была построена трехмерная модель белка. Выравнивание, сделанное программой Swiss-PdbViewer при создании файла Project, получилось не самым оптимальным, в отличие от выравнивания, производимого программой AliBee. Построенная по гомологии трехмерная модель белка NS3 штамма Dalnegorsk, показала 57% идентичности с кристаллической структурой NS3 вируса Денге.

В результате поиска структурных доменов вирусного белка NS3 штамма Dalnegorsk было обнаружено, что последовательность содержит в себе три домена. Первый домен является флавивирусной сериновой протеазой, принадлежит классу пептидаз (Peptidase) и расщепляет вирусный полипротеин на инди-



видуальные белки (Flavivirus NS3 serine protease). Второй домен исследуемого белка является фантомным белком (DEAD domain), относящимся к семейству Flavi_DEAD. Его функция неизвестна. И геликазы (Helicase conserved C-terminal domain) – это третий домен исследуемого белка. Таким образом, белок NS3 – это многофункциональный белок, включающий в себя все эти три домена.

ОСНОВЫ ТРЕХМЕРНОЙ БИОПЕЧАТИ

**Пелешок С.А., Протасов О.В., Нагибович О.А.,
Титова М.В., Астанина А.К., Елисеева М.И.**

*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

В мире в последнее десятилетие возможности технологий трехмерной печати (3D-печать) резко улучшились и переместились в область медицины для создания объемных трехмерных тканевых и органных конструкторов.

3D-биопечать имеет большие перспективы в создании тканей и органов. Создаются пока только простые ткани, такие как кожа, мышцы и небольшие участки кровеносных сосудов и формируются зубы из слоев соединительной ткани. Крупные фармфирмы используют печать на 3D-биопринтерах различных тканей и органов для тестирования на них новых лекарств, диагностикумов и др. Также, напечатанные 3D-модели живых человеческих органов и участков тела используются для учебного процесса. Биопринтеры способны печатать сети разветвленных сосудов. Возможна печать эндотелиальной ткани. Исследуется ряд технологий, которые бы позволили создавать человеческие органы из отдельных клеток, например, технология «накачивания» мышечных клеток при использовании ручных машин. В будущем планируется печатать ткани прямо в человеческом теле: биопринтер после сканирования участка тела, где необходима пересадка кожи, сможет напечатать кожу прямо на человеческом теле. Планируют первый орган (печень, почку, сердце) напечатать к 2030 году. Ранее – ткани.

В связи с тем, что трехмерная биопечать является областью приоритетных направлений научных исследований не только зарубежных, но и отечественных ученых, проведен анализ около 150 зарубежных и некоторых отечественных публикаций за период с 2010 года с целью определения однотипной терминологии в этом направлении регенеративной медицины.

В технологии трехмерной биопечати (3D-биопечати) различают стадии предварительной обработки, печати и дополнительной обработки.



На стадии предварительной обработки 3D-биопечать включает: этап визуализации и цифрового дизайна – создание при использовании неинвазивных методов исследования (сканирование, рентгеновская компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, ультразвуковое исследование) цифровой трехмерной модели и этап проектирования заданной трехмерной компьютерной модели органа с помощью специальной компьютерной программы автоматического проектирования. К этой же стадии относится этап выбора подходов, которые могут быть использованы для 3D-биопечати. Чаще всего используются три подхода: биомимикрия (напечатанные специфичные клеточные конгломераты имитируют функциональные участки органа или ткани), автономная самосборка (воспроизведение ткани, следуя особенностям развития эмбриона) и мини-ткани (создании функциональной единицы любого органа или ткани). Один, или комбинация этих подходов, могут быть использованы для печати биологически активного трехмерного комплекса, структурно сходного с нативным органом.

Стадия печати включает этап выбора биополимеров (гидрогелей, «биобумаги»), этап выбора и подготовки клеток («биочернил») и собственно этап биопечати. По типу источника получения биополимеры разделены на две группы – натуральные и синтетические полимеры. Натуральные, в свою очередь, подразделяются на природные протеины (коллаген, тромбин, фибриноген, желатин, альбумин) и полисахариды (хитозан, хитин, целлюлоза и т. д.). К синтетическим (искусственным) биополимерам относятся полимолочная кислота, полигликолиевая кислота, полипропилен фумарат, полиангидриды, поликарбонаты, полиортоэфиры, полиуретаны и др. Чаще всего используют комбинированные биополимеры. В последнее время появилось поколение «смарт» биополимеров. Одним из наиболее важных этапов, определяющих успех трехмерной биопечати, является выбор подходящих клеток, обеспечивающих сохранение и функции напечатанной ткани. При выборе клеток необходимо учитывать их жизнеспособность во время биопечати, взаимодействие с другими клетками и биополимерами (гидрогелями), направленную дифференцировку и т.д. Выбор клеток для биопечати осуществляют среди дифференцированных клеток, а также плюрипотентных и мультипотентных стволовых клеток.

Биопринтер, используемый при трехмерной биопечати, обеспечивает роботизированное послойное формирование трехмерных объектов по созданным компьютерным образам. Биопринтеры по методу биопечати классифицируются на три типа: лазерные (лазер-опосредованная печать), струйные (биопечать по каплям) и экструзионные (дозированное вытеснение). При лазерной биопечати с донорского слоя («ленты») под действием лазерного импульса клетки перемещаются на принимающий (подложечный) слой («ленту»). По механизму образования капель и последующего нанесения их через сопло струйная печать подразделяется на термическую и пьезоэлектрическую. При микроэкструзии



онной печати биочернила вытесняются через экструдер (микрошприц) путем применения пневматической силы, давления на поршень механической силы или винтового вращения. По способу построения биопринтером тканевого конструктора (прообраза или отдельных элементов органа) различают два способа трехмерной биопечати: снизу-вверх и сверху-вниз.

Стадия дополнительной обработки может включать этапы помещения в биореактор, добавления факторов созревания (ростовых и др.), биомониторинга и применения (трансплантации).

Предлагаемая терминология представлена в качестве основы для однотипного понимания технологии 3D-биопечати и она может обсуждаться и дополняться.

ВЫДЕЛЕНИЕ КАМПИЛОБАКТЕРОВ. СЕЛЕКТИВНЫЕ СРЕДЫ ИЛИ МЕМБРАНЫ?

Порин А.А.^{1,2}, Матвеева З.Н.²

*¹Северо-Западный государственный медицинский университет
имени И.И. Мечникова,*

*²Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,
Санкт-Петербург*

Термотолерантные кампилобактеры являются наиболее значимыми бактериальными возбудителями кишечных инфекций в большинстве стран. Селективные питательные среды позволяют осуществлять диагностику заболеваний у людей, а также контролировать распространение этих патогенов среди естественных хозяев (сельскохозяйственные птицы и животные) и в объектах внешней среды. В то же время, имеются многочисленные свидетельства того, что применяемые в составе селективных добавок антибиотики могут активно подавлять некоторые виды и штаммы кампилобактеров. В связи с этим предпринимаются попытки совершенствования методов выделения кампилобактеров, основанные на использовании мембранных технологий, позволяющих применять неселективные среды.

Целью настоящей работы была оценка подавляющего эффекта коммерческих селективных добавок, а также сравнительная оценка эффективности мембранных технологий для выделения кампилобактеров.

Материалы и методы. В качестве селективных сред для выделения кампилобактеров были использованы агары Skirrow и CCDA (Oxoid, UK), в качестве неселективных применялся Columbia Blood Agar Base с 5% бараньей крови



и *Campylobacter Blood Free Agar Base* (Oxoid, UK). Тест-штаммы кампилобактеров были выделены от людей, кур и телят с использованием разработанной нами технологии, основанной на применении трековых мембран. Коллекция насчитывала 82 штамма *S.jejuni*, 9 штаммов *S.coli* и 1 штамм *S.lari*. Количественные исследования проводили по модифицированной методике Miles and Misra (капельный метод), а также с использованием метода НВЧ (модифицированный 10-рядный метод). В работе были использованы мембранные фильтры из ацетата целлюлозы с диаметром пор 0,45 мкм и трековые мембраны с порами 0,45 мкм (Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна) и 0,5 мкм (НПФ «ТреМ», С.-Петербург).

Результаты и обсуждение. При посеве на сектора на CCDA и среде Skirrow 82 штаммов *S.jejuni* и 9 штаммов *S.coli* отмечался обильный рост всех культур. *S.lari* рос в виде единичных колоний только на агаре Skirrow. Для получения количественных характеристик выборочно был определен коэффициент всхожести. На CCDA и агаре Skirrow для всех 8 штаммов *S.jejuni* этот коэффициент превышал 0,7 (0,71-0,76), в то время, как для 2 из 6 штаммов *S.coli* на CCDA он составлял всего 0,15, а на среде Skirrow 0,65. Все полученные коэффициенты при контроле качества питательных сред в соответствии с ГОСТ ISO 11133-2014 и ГОСТ Р EN 12322-2010 были бы расценены как допустимые для селективных сред, однако для 2 штаммов *S.coli* на CCDA они находились на нижней границе, а значит при низких концентрациях возбудителя в исследуемом материале он не был бы обнаружен. Для *S.lari* показатель всхожести на CCDA определить не удалось ($<0,001$), а на среде Skirrow он составлял 0,013. Таким образом, этот штамм активно подавлялся на обеих использованных средах.

Использование неселективных питательных сред совместно с мембранными фильтрами было показано Steele T. и McDermott S. [1984], однако, большинство кампилобактеров задерживается материалом фильтра, что значительно снижает чувствительность метода. Для количественной оценки сорбционной способности мембранных фильтров был использован модифицированный нами метод посева из разведений через мембранные фильтры и трековые мембраны. При последующих расчетах методом НВЧ было показано, что мембранные фильтры сорбировали 99,9% нанесенных кампилобактеров, в то время как при использовании трековых мембран различия с прямым посевом на среду были статистически недостоверны.

Выводы и заключение. Угольная среда с цефоперазоном и дезокси-холатом (CCDA) может подавлять рост целевых микроорганизмов. В наименьшей степени это относится к *S.jejuni*. Среда Skirrow в меньшей степени подавляет рост кампилобактеров, однако ее селективность также менее выражена. Таким образом, для достижения оптимального результата целесообразно использовать параллельный посев на две среды с разными механизмами



селективности. Альтернативным решением является использование трековых мембран в сочетании с неселективными средами, однако, реализация этого направления сдерживается отсутствием коммерческого выпуска указанных мембран (использованные в работе мембраны были выпущены малой серией по заказу автора).

ИММУННЫЙ СТАТУС У БОЛЬНЫХ ПЕРИТОНИТАМИ

Романов В.А., Семечкин Н.В.

*Ярославский государственный медицинский университет,
г. Ярославль*

Цель. Исследование уровня антител к различным микроорганизмам, не являющихся причиной воспалительного процесса, и состояния клеточного иммунитета к распространенным антигенам при перитонитах для оценки функционирования Т- и В-систем иммунитета и подбора наиболее адекватных видов микроорганизмов и антигенов для тестирования этих систем.

Материалы и методы. Обследовано 50 больных перитонитом (39 мужчин, 11 женщин) в возрасте от 11 до 62 лет. Распространенный перитонит диагностирован у 40 больных, местный – у 10. В реактивной фазе было 33 пациента, токсической – 13, терминальной – 4. Причинами перитонита наиболее часто являлся аппендицит (18 пациентов), несколько реже – прободные язвы желудка и двенадцатиперстной кишки (14), намного реже – травма брюшных органов (4), кишечная непроходимость (6), острый холецистит (4) и острый панкреатит (4). Ограниченный местный перитонит был диагностирован у 6 больных, с неограниченным – у 6, диффузный – у 13, разлитой – у 25. Определяли антитела к *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, дрожжеподобным грибам (вид *Candida albicans*) в агглютинационных тестах, к вирусу кори в РНГА. Состояние клеточного иммунитета оценивали по данным исследования гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) с помощью реакции торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ) с фитогемагглютинином (ФГА), кандидозным аллергеном и туберкулином. Контрольную группу составили 22 здоровых донора того же возраста и пола.

Результаты и обсуждение. У больных перитонитом, причинами которого были соответственно перфоративная язва желудка и 12-перстной кишки, острый аппендицит, кишечная непроходимость и острый холецистопанкреатит по сравнению с показателями здоровых лиц обнаружено достоверное снижение уровня антител к *Shigella flexneri*, повышение - к вирусу кори, отсут-



ствие изменений антителообразования к *Candida albicans*. При перитоните в результате острого аппендицита констатированы более низкие титры антител к *Shigella sonnei*, вирусу кори, *Candida albicans*, чем вследствие кишечной непроходимости. Уровни антител к *Candida albicans* были ниже при перфоративной язве желудка и 12-перстной кишки, нежели при кишечной непроходимости, осложненных перитонитом. Содержание всех антител было существенно ниже у больных в токсической фазе болезни, чем в реактивной, и особенно в терминальных фазах при исследовании в динамике, а также в сравнении с донорами. Глубина снижения уровня антител при перитонитах не зависела от характера экссудата.

У больных перитонитами, причинами которого были соответственно перфоративная язва желудка и 12-перстной кишки, острый аппендицит, кишечная непроходимость, острый холецистопанкреатит констатировано достоверное снижение ГЗТ ко всем антигенам по сравнению с данными контроля. При перитоните, причиной которого был острый аппендицит, состояние ГЗТ в отношении всех антигенов было выше, чем вследствие кишечной непроходимости. Уровень ГЗТ был существенно ниже у больных в токсической фазе болезни, чем в реактивной и терминальной как в динамике, так и в сравнении с донорами. Выраженность ГЗТ при перитонитах не зависела от характера экссудата. В целом, изменения в иммунной системе больных перитонитом в реактивной фазе носила временный характер, нормализуясь в процессе лечения. Токсическая и терминальная фазы перитонита, являясь очень тяжелым патологическим состоянием с декомпенсацией всех функциональных систем организма больного, характеризовались глубоким угнетением как клеточного, так и гуморального иммунитета. Эти изменения, в свою очередь, являются признаком неблагополучия, тяжелой декомпенсации иммунной системы всех пациентов, что требует проведения достаточно индивидуализированной интенсивной иммунотерапии, ориентиром в которой могут быть применены использованные в настоящей работе иммунологические показатели, отражающие реактивность конкретного пациента.

Выводы. Для оценки гуморального звена иммунной системы при перитоните возможно применение различных инфекционных патогенов (бактерии, вирус, грибы), не являющиеся причиной воспалительного процесса. Определение антител к таким микроорганизмам у больных перитонитами может быть полезно для прогнозирования заболевания. Для оценки состояния Т-системы иммунитета при перитоните и прогнозирования заболевания могут быть использованы ФГА, кандидозный аллерген и туберкулин.



УСТОЙЧИВОСТЬ К ПРОТИВОГРИБКОВЫМ ПРЕПАРАТАМ КАНДИД ОТ СОБАК

Сачивкина Н.П., Куликов Е.В.

*Российский университет дружбы народов,
Москва*

Актуальность. Кандидоз – инфекционное поражение слизистых оболочек, вызываемое дрожжеподобными грибами (ДПГ) рода *Candida*. Помимо человека кандидоз может развиваться и у животных, что с одной стороны плохо, т.к. они могут передавать эту микотическую инфекцию своим владельцам, с другой стороны хорошо, т.к. моделирование различных кандидозов на лабораторных животных давно используется учеными всего мира.

Частота грибковых заболеваний у человека значительно возросла во всем мире, подобная картина сейчас наблюдается и в ветеринарии. И если в медицине правильный выбор препаратов обусловлен тестом определения чувствительности, то у животных этиотропная терапия часто назначается без предварительного анализа, а «по схеме», что ведет к нерациональной химиотерапии с непредсказуемым эффектом. С этих позиций интересным представляется изучение уровня резистентности *Candida spp.* к основным противогрибковым препаратам, выделенных у больных животных.

Материалы и методы. Проведено определение чувствительности к противогрибковым препаратам 20 штаммов *Candida albicans*, изолятов ротовой полости собак, диско-диффузионным методом к следующим пяти препаратам: нистатин (NYS-50µg), клотримазол (CTR-10µg), амфотерицин-Б (AMB-10µg), флуконазол (FLU-10µg), кетоконазол (KET-10µg).

В результате исследования доля штаммов ДПГ, чувствительных ко всем препаратам, составила 10%. Штаммы, устойчивые к одному и двум противогрибковым препаратам, составили, соответственно, 15% и 30%. При анализе структуры устойчивости к противогрибковым препаратам выявлено доминирование штаммов, характеризующихся резистентностью к трем и более препаратам (45%). Чаще всего штаммы кандид были резистентны к флуконазолу и кетоконазолу – препаратам, которые в настоящее время широко используются в ветеринарной практике. Выявление штаммов, устойчивых к данным препаратам, существенно ограничивает возможности химиотерапии кандидоза.

Вывод. Наличие полирезистентных штаммов кандид у собак является обоснованием для предварительного определения их чувствительности к противогрибковым препаратам. А также для непрерывного микологического мониторинга распространения устойчивых штаммов в ветеринарии.



СОВРЕМЕННЫЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА БРЮШНОГО ТИФА

Сбойчаков В.Б.¹, Кафтырева Л.А.^{1,2}

¹Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,

²Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,
Санкт-Петербург

Брюшной тиф (БТ) как острое инфекционное заболевание регистрируется на всех континентах и на глобальном уровне пока не искоренен. За последние 15 лет в ВОЗ поступили сообщения о крупных вспышках БТ в Африке: в Республике Конго были зарегистрированы две крупные вспышки: в 2006 г. - 1500 случаев и в 2004 г. - 42564 случаев (214 закончились смертельным исходом и в 696 случаях развилось тяжелое осложнение в виде перфорации кишечника). В 2015 г. в Уганде вспышка включала 1940 случаев. Факторами передачи служили питьевая вода и соки, контаминированные фекальными массами. В экономически развитых странах в настоящее время подавляющее большинство случаев БТ являются привозными. Проведенные исследования выявили, что 60% случаев завезены туристами, посещавшими страны эндемичные по БТ, из них 75% наблюдались среди туристов, побывавших в Индии и Непале. Нередко БТ завозится рабочими-мигрантами. В России с 2008 г. более 70% случаев БТ являются завозными из стран ближнего и дальнего зарубежья. По официальным данным БТ в РФ на протяжении многих десятилетий характеризуется тенденцией к снижению. Число случаев уменьшилось с 6976 (1970 г.) до 29 (2015 г.), неблагоприятную эпидемическую ситуацию определяют социально дезадаптированные группы населения. Недооценка эпидемиологических и клинических данных затрудняла догоспитальную диагностику у пациентов с лихорадкой, посещавших страны с жарким климатом и у лиц без определенного места жительства.

Ведущее место в лечении БТ занимает этиотропная терапия: применение адекватных антимикробных препаратов (АМП) позволило снизить летальность до уровня менее 1,0%. Лабораторная диагностика, направленная на выделение возбудителя, не вызывает затруднений. Сложности возникают при интерпретации результатов определения чувствительности к антимикробным препаратам (АМП). В России в 2005-2016 гг. 95,5% штаммов *S. Typhi* по фенотипу резистентности представляли 3 группы: - чувствительные к АМП (16,7%); - устойчивые к группе хинолонов (76,3%); - резистентные к ампициллину, клорамфениколу, тетрациклину, ко-тримоксазолу, хинолонам (2,6%). 14 штаммов



не укладывались четко в перечисленные группы. Они характеризовались резистентностью к хинолонам и/или к котримоксазолу и тетрациклину. В настоящее время определение чувствительности *S. Typhi* и интерпретация результатов тестирования к важным АМП имеет ряд особенностей. Согласно рекомендациям EUCAST чувствительность штаммов *S. Typhi* к ципрофлоксацину следует определять методами, позволяющими оценить минимальную подавляющую концентрацию (МПК). К категории чувствительных относят штаммы с МПК не выше 0,06 мг/л. При использовании диско-диффузионного метода (ДДМ) следует брать диск с пefлоксацином, 5 мкг. Для повышения достоверности результата можно включать диск с налидиксовой кислотой как индикатор развития устойчивости к хинолонам.

Определение чувствительности к цефалоспорином 3-4 поколения не вызывает затруднений при условии тестирования ДДМ двух препаратов цефтазидима и цефотаксима (цефтриаксона) и постановки подтверждающего теста на продукцию бета лактамазы расширенного спектра. Результаты тестирования распространяются на все препараты этой группы, в том числе цефиксим, используемый для лечения БТ.

В ряде стран для лечения БТ используют азитромицин, обладающий активностью в отношении *Salmonella*. Согласно EUCAST возможно использование азитромицина для лечения инфекций, вызванных *S. Typhi* с МПК ≤ 16 мг/л. Поскольку ДДМ или метод пограничных концентраций не позволяют получить точно МПК, для определения чувствительности следует использовать Е-тест или метод серийных разведений. В популяции *S. Typhi*, выделенных в РФ в 2005-2016 гг., не выявлены штаммы с МПК азитромицина выше 16 мг/л, МПК₉₀ составляла 4 мг/л.

Для типирования штаммов *S. Typhi* в эпидемиологических целях используют различные методы: фаготипирование, PFGE, а также другие молекулярные методы. Для получения информации о филогенетическом родстве и эволюции возбудителя наиболее подходят методы, основанные на изучении сиквенса ДНК. *S. Typhi* – относительно «молодой» (не старше 10-50 тысяч лет), генетически мономорфный патоген с консервативным геномом. Он существует недостаточно долго для возникновения выраженного сиквенс-полиморфизма. Метод генотипирования, основанный на детекции однонуклеотидных полиморфизмов (SNP-single nucleotide polymorphism), позволяет выявить клональность штаммов и полученные данные могут быть интегрированы в глобальную базу данных. Метод выявляет 85 гаплотипов *S. Typhi* (H1-H85), наиболее известен H58, который составляет до 50% выделенных в мире штаммов и широко циркулирует в странах Юго-Восточной Азии («Азиатский клон») и Африки (восточной и южной). 70% штаммов гаплотипа H58, характеризуются множественной резистентностью к АМП (ампициллину, хлорамфениколу, ко-тримоксазолу, ципрофлоксацину). Штаммы с аналогичной резистентностью в РФ составляют 2,6%.



Выводы. Необходим постоянный мониторинг чувствительности к АМП возбудителя БТ не только на региональном, но и глобальном уровне, так как это заболевание склонно к широкому эпидемическому распространению, возникновению вспышек, а инфицирование резистентными штаммами приводит к снижению эффективности этиотропной терапии. Надзор за резистентностью и рациональная антимикробная терапия позволят ограничить дальнейшее распространение полирезистентных клонов возбудителя.

УСТОЙЧИВОСТЬ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ К КАРБАПЕНЕМАМ: МЕХАНИЗМЫ И СПОСОБЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Суборова Т.Н.

*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Значительная часть инфекционных осложнений у пациентов медицинских стационаров, повышающих риск летального исхода, связана с полирезистентными штаммами возбудителей. В настоящее время при лечении тяжелых госпитальных инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями (ГОб), практически полностью утратили свое значение цефалоспорины, защищенные пенициллины и цефалоспорины, фторхинолоны, гентамицин. В структуре возбудителей нозокомиальных инфекций стали доминировать антибиотикорезистентные штаммы.

Современная эмпирическая терапия тяжелых инфекций основана на применении карбапенемов. Начиная с 1987 г., в клинике используются карбапенемы с активностью против неферментирующих ГОб (имипенем/циластатин, меропенем, дорипенем) и не обладающие такой активностью (эртапенем). Карбапенемы оказывают мощное бактерицидное действие, обусловленное нарушением образования клеточной стенки бактерий вследствие инактивации транспептидаз, или пенициллинсвязывающих белков. По сравнению с другими β -лактамами карбапенемы способны быстрее проникать через наружную мембрану ГОб и, кроме того, оказывать в отношении них выраженный постантибиотический эффект. В то же время, все чаще регистрируются штаммы, устойчивые к антибиотикам резерва – карбапенемам. Невосприимчивость ГОб к карбапенемам грамотрицательных бактерий вызывает особые опасения. Во-первых, они широко представлены в окружающей среде, во-вторых, охотно обмениваются своими генами с бактериями других групп. Сочетание этих фак-



торов означает, что в недалеком будущем многие не опасные ранее инфекционные заболевания станут неизлечимыми.

Устойчивость к карбапенемам может быть обусловлена разными механизмами. В случае локализации генов преимущественно на хромосомах отмечается нарушение структуры пориновых каналов или активация систем эффлюкса. Этот механизм устойчивости не передается горизонтально, имеет ограниченное внутри- и межвидовое распространение, что снижает вероятность быстрого распространения генов. В случае, когда гены локализованы на подвижных генетических элементах, напротив, вероятно быстрое их распространение. Плазмидную локализацию имеют большинство генов карбапенемаз – бета-лактамаз, инактивирующих пенициллины, цефалоспорины I-IV поколений и карбапенемы.

В соответствии с молекулярной классификацией (Ambler, R. P., 1980) бета-лактамазы относятся к 4 классам: А, С и D – сериновые бета-лактамазы, содержащие в активном центре фермента аминокислоту серин и класс В – металло-бета-лактамазы, содержащие в активном центре фермента атом цинка. Среди сериновых бета-лактамаз карбапенемазная активность выявляется у классов А и D. Карбапенемазы различаются по спектру активности и чувствительности к ингибиторам.

Бактерии – продуценты карбапенемаз встречаются в стационарах Европы, США, других стран. С 2011 года в ряде медицинских учреждений Санкт-Петербурга с возрастающей частотой регистрируются вспышки госпитальных инфекций, вызванных распространением ГОБ, резистентных к карбапенемам вследствие продукции карбапенемаз. Устойчивость связана с продукцией глобально распространенных карбапенемаз: NDM-тип и VIM-тип (металло-бета-лактамазы, класс В), KPC-тип (сериновые бета-лактамазы, класс А) и OXA-48-тип (сериновые бета-лактамазы, класс D). В нашем стационаре в 2010-2015 гг. в спектре гемокультур отмечено двукратное повышение доли *K. pneumoniae* (с 8,5% до 15%), *A. baumannii* (с 4,8% до 10,3%), при этом 34,1% ГОБ были нечувствительны к меропенему. Доля ГОБ в спектре возбудителей раневой инфекции к 2014 году превысила 60%-ный уровень и продолжает повышаться, а чувствительность к меропенему не превышает 60-70% у ГОБ разных видов.

Лабораторная диагностика устойчивости к карбапенемам должна включать ряд этапов: качественное и количественное определение чувствительности к карбапенемам, фенотипическая или масс-спектрометрическая детекция карбапенемазной активности, фенотипическая дифференцировка карбапенемаз, молекулярная детекция генов карбапенемаз. В настоящее время возможен скрининг с использованием хромогенных сред при первичном посеве клинического материала, выявление ГОБ, продуцирующих карбапенемазы, с помощью фенотипических методов (Carba-NP, Carbapenem Inactivation Method, CIM), метода масс-спектрометрической детекции активности карбапенемаз. и методом



мультиплексной ПЦР в режиме реального времени (АмплиСенс, Россия). Необходима разработка и внедрение оптимального диагностического лабораторного алгоритма, включающего бактериологические и молекулярно-генетические методы выявления активности карбапенемаз.

Данные о механизме устойчивости к карбапенемам необходимы для назначения рациональной антибактериальной терапии. Так, схемы терапии инфекционных осложнений, вызванной продуцентами карбапенемаз серинового типа, могут включать комбинации карбапенемов или длительную инфузию максимальных доз карбапенемов, тогда как в борьбе с возбудителями, продуцирующими метало-бета-лактамазы, можно ожидать эффективности только при использовании комбинаций антимикробных препаратов, включающих колистин, тигециклин, фосфомицин и другие антимикробные препараты. Глобальное распространение карбапенемаз – наиболее серьезная угроза здравоохранению. Внедрение оптимального диагностического лабораторного алгоритма выявления продуцентов карбапенемаз позволит сдерживать этот процесс путем раннего выявления инфицированных или колонизованных пациентов, а также своевременной изоляции пациентов и проведения противоэпидемических мероприятий.

ВОЗБУДИТЕЛИ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ПАЦИЕНТОВ С ТЯЖЕЛЫМИ РАНЕНИЯМИ И ТРАВМАМИ

**Суборова Т.Н., Сидельникова О.П., Борисенко Н.В.,
Проценко А.Н., Криворучко А.Б., Свистунов С.А.**
*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Введение. Развитие инфекционных осложнений у раненых и пострадавших с политравмой повышает риск летального исхода. Инфекционные осложнения тяжелых ранений и травм превалируют в клинической картине после 3-х суток с момента поступления пострадавших и являются основной причиной летальных исходов в позднем периоде политравмы. Значительная часть этих осложнений связана с полирезистентными штаммами возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП).

Цель. Изучить спектр возбудителей инфекционных осложнений у пациентов с тяжелыми ранениями и травмами, находящихся на лечении в хирургическом стационаре.



Материалы и методы. Для исследования клинических образцов и идентификации выделенных возбудителей использовали классические методы, чувствительность бактерий определяли диско-диффузионным методом. Результаты оценивали на основании критериев интерпретации, представленных в отечественных рекомендациях 2015 года. Выявление ГОБ, продуцирующих карбапенемазы, проводили с помощью фенотипического метода инактивации карбапенемов (Carbapenem Inactivation Method, CIM) (Kim van der Zwaluw e.a., 2015) и методом мультиплексной ПЦР в режиме реального времени (Ампли-Сенс, Россия).

Результаты и обсуждение. За период 2011-2015 гг. из образцов клинического материала было выделено 12322 штамма, среди которых лидировали *P. aeruginosa* (13,36%), *K. pneumoniae* (13,26%), *A. baumannii* (13,12%) и *S. aureus* (12,25%). Анализ результатов показал, что удельный вес разных групп возбудителей различался в зависимости от локализации инфекционного осложнения: в спектре возбудителей инфекций дыхательных путей чаще обнаруживались *Acinetobacter* spp., *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*, из мочи чаще других выделяли *Enterococcus* spp., *K. pneumoniae* и *Candida* spp. При исследовании крови лидировали *S. epidermidis* и *S. aureus*, в раневом отделяемом – *S. aureus* и *P. aeruginosa*. Четыре ведущих возбудителя (*K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и *S. aureus*) лидировали на протяжении всего периода наблюдения. Отмечались колебания удельного веса возбудителей этой группы и степени их устойчивости к антибиотикам разных групп. Так, у грамотрицательных бактерий было установлено постепенное нарастание устойчивости к карбапенемам. При молекулярно-генетическом исследовании 26 меропенем-резистентных штаммов (10 - *A.baumannii*, 10 - *K. pneumoniae* и 6 - *P.aeruginosa*) установлена продукция карбапенемаз у 13 из них. Выявлены штаммы *A.baumannii*, несущие гены карбапенемаз типа OXA-40 (6 случаев), *P.aeruginosa* (VIM, 2 случая), *K.pneumoniae* (3 случая NDM, 1 - OXA-48). У одного штамма *K.pneumoniae* были одновременно выявлены гены NDM и OXA-48. У штаммов, несущих гены карбапенемаз, была обнаружена также ферментативная активность в CIM тесте. Полученные данные свидетельствуют о необходимости проведения постоянного микробиологического и молекулярно-генетического мониторинга условно-патогенных бактерий для определения «микробиологического портрета» лечебного учреждения и своевременного выявления его изменений. Микробиологический мониторинг, проводимый в стационаре в течение нескольких лет, позволил следить за изменениями в спектре возбудителей ИСМП, тенденциями развития и механизмами устойчивости к антимикробным препаратам и своевременно решать ряд задач: этиологической расшифровки ИСМП у пациентов, выявления госпитальных штаммов микроорганизмов и разработки стратегии и тактики борьбы с ними; динамической оценки и корректировки проводимой антимикробной терапии на основе организации рационального взаимодействия



между лечащими врачами и сотрудниками микробиологической лаборатории; своевременной коррекции лекарственного формуляра на основе организации рационального взаимодействия специалистов; проведения эффективных целенаправленных санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий.

Выводы. 1. На протяжении всего периода наблюдения среди возбудителей инфекционных осложнений у пациентов с тяжелыми ранениями и травмами, находящихся на лечении в хирургическом стационаре, лидировали *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и *S. aureus*.

2. Отмечались колебания удельного веса возбудителей этой группы и степени их устойчивости к антибиотикам разных групп. У грамотрицательных бактерий было установлено постепенное нарастание устойчивости к карбапенемам.

3. При фенотипическом и молекулярно-генетическом исследовании у 13 из 26 меропенем-резистентных штаммов (10 - *A.baumannii*, 10 - *K. pneumoniae* и 6 - *P.aeruginosa*) установлена продукция карбапенемаз.

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ (АППАРАТЫ) ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ВОЙСКОВОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ РАЗВЕДКИ (ПО РЕЗУЛЬТАТАМ АНАЛИЗА ЗАРУБЕЖНЫХ ИСТОЧНИКОВ)

Телятников М.А., Ветлужских А.А.

*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург,*

*1027 Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора
Восточного военного округа,
г. Чита*

Актуальность совершенствования методов ведения войсковой биологической разведки трудно переоценить. Данному вопросу посвящено значительное количество материалов в зарубежных источниках. Проблема качественного проведения биологической разведки остается актуальной и даже возрастает в условиях реальной угрозы биотерроризма, по прежнему остро обсуждается во всех армиях блока НАТО.

Для неспецифической индикации используются триггеры – аппараты дистанционного контроля (обнаружения) патогенного биологического агента: ультрафиолетовые лазеры (УФ-лидары), а также приборы на основе технологии пассивного изображения в инфракрасной области светового спектра.



Для специфической индикации и идентификации предложены четыре основные группы методов (аппаратов).

Биосенсоры на основе иммунологических методов диагностики: иммунологические тест-наборы, иммунохроматографический анализ рекомбинантных антител, матричные биосенсоры с флюоресцентной меткой, биосенсоры с твердофазной флюоресцентной меткой, волоконно – оптические приборы на основе флюороиммуноанализа, детекторы биологических реакций, флюорометрический афинный сенсор, сенсор на основе плазмонного резонанса, сенсор на основе иммунофльтрационного анализа, дифракционный биосенсор, электрохемолуминесцентный биосенсор.

Биосенсоры на основе спектроскопических методов: инфракрасная спектроскопия, рамановская спектроскопия, масс-спектроскопия.

Биосенсоры на основе идентификации ДНК патогенов: метод амплификации ДНК (ПЦР – анализ и его модификации, ЛЦР – анализ и его модификации), метод гибридизации ДНК (метод разветвленных зондов, ДНК-чипы), метод секвенирования генома микроорганизма (мультилокусное секвенирование переменных тандемных повторов, прямое определение переменных тандемных повторов).

Активно изучаются детекторы для идентификации биологических и химических поражающих агентов на основе комплекса технологий смежных наук.

РАСШИФРОВКА БИОЛОГИЧЕСКИХ ПАТОГЕННЫХ АГЕНТОВ В УСЛОВИЯХ ЧРЕЗВЫЧАЙНЫХ СИТУАЦИЙ

Тренина Я.Н., Ланцов Е.В., Горобец Д.В.

*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Лабораторная диагностика биологического патогенного агента в условиях чрезвычайных ситуаций высокого эпидемиологического риска должна осуществляться в максимально короткие сроки. Это позволяет своевременно определить перечень и объем мероприятий по локализации и ликвидации очага.

Для решения этой задачи центры государственного санитарно-эпидемиологического надзора Министерства обороны РФ (ЦГСЭН МО РФ) оснащаются комплектами КТИА-01.1, предназначенными для обнаружения и идентификации биологических патогенных антигенов (БПА) и токсинов возбудителей особо опасных инфекций методом твердофазного точечного иммуноферментного анализа (дот-ИФА) в двухчасовом интервале времени.



Сущность метода дот-ИФА заключается в следующем. Поверхность фильтрующей ацетатцеллюлозной мембраны активируется специфическим иммуноглобулином. Имобилизованный иммуноглобулин взаимодействует с антигеном микроорганизма, содержащимся в исследуемой пробе, и образует комплекс антиген-антитело. Детекция образующихся комплексов осуществляется при помощи реакции с пероксидазным конъюгатом. При этом интенсивность окраски участка мембраны пропорциональна количеству антигена, содержащегося в пробе.

Комплект КТИА-01.1. позволяет выявлять и идентифицировать 25 наименований БПА I-II групп патогенности. С его помощью исследуются пробы, переведенные в жидкую фазу (биологический материал от больных или подозрительных на заболевание людей, колонии, выросшие на плотных питательных средах, культуральные жидкости, пробы воздуха, органы и ткани человека и животных, насекомые, пищевые продукты и пр.). В состав комплекта входят химические реагенты, иммуноферментные тест-системы и другое имущество, необходимые для проведения исследования. Он изготовлен из прочных материалов, прост в использовании, компактен, не нуждается в дополнительном источнике питания.

В 2015-2016 гг. комплект неоднократно использовался для отработки навыков по индикации БПА с личным составом отделений особо опасных инфекций и нештатных подвижных санитарно-эпидемиологических групп (ПСЭГ) в 1002 и 1027 ЦГСЭН МО РФ. Практический опыт использования подтверждает его исключительную эффективность в полевых условиях и целесообразность комплектования им нештатных ПСЭГ.

ПРИМЕНЕНИЕ ПЦР И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ВАГИНАЛЬНОГО ОТДЕЛЯЕМОГО ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ВЛАГАЛИЩА У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА

Филиппова Ю.Н., Ворошилова Т.М., Есютина Е.И.

*Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины
имени А.М. Никифорова,
Санкт-Петербург*

В настоящее время установлено, что микробиота влагалища является высоковариабельной экосистемой, насчитывающей до 300 различных индигенных видов микроорганизмов, находящихся в динамическом равновесии. Изменение видового состава и численности зачастую приводит к развитию инфекционных



урогенитальных заболеваний, ассоциированных с патогенными микроорганизмами, проникающими во влагалище извне или условно-патогенной микрофлорой из числа вагинальной микробиоты. В структуру таких инфекционных заболеваний входят: вульвовагинальный кандидоз, бактериальный вагиноз, аэробный вагинит, ИППП. До 30% заболеваний вызывается смешанными инфекциями. До недавнего времени диагностика этих состояний опиралась на данные физикального осмотра, микроскопии, микробиологического посева и определения единичных возбудителей методом ПЦР. Однако совокупность клинических данных и результатов рутинного микроскопического исследования обладает низкой информативностью для установления диагноза и назначения соответствующей этиотропной терапии. В этой связи идентификация возбудителя с помощью бактериологического посева или ПЦР обладают несомненным преимуществом, но также имеют ряд ограничений каждый в своей области.

Цель исследования. Оценить возможность диагностики инфекционных заболеваний влагалища среди женщин репродуктивного возраста с помощью теста «АмплиПрайм Флороценоз-Бактериальный вагиноз - FL» (ЦНИИ Эпидемиологии, Москва.), разработанного на основе ПЦР в режиме «реального времени» (ПЦР-РВ) и микробиологического исследования отделяемого влагалища.

Материалы и методы. В исследование были включены 100 женщин в возрасте от 22 до 45 лет, обратившихся в лечебное учреждение ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России за консультативной помощью к акушеру-гинекологу. По результатам физикального осмотра материал (отделяемое влагалища) был отправлен на микробиологическое исследование и ПЦР - диагностику бактериального вагиноза методом ПЦР-РВ («АмплиПрайм Флороценоз-Бактериальный вагиноз - FL» ЦНИИ Эпидемиологии, Москва).

Результаты. При исследовании вагинальных мазков методом ПЦР-РВ диагноз бактериальный вагиноз был установлен на основании соотношений концентраций ДНК общей бактериальной массы, *Lactobacillus* spp. и анаэробных микроорганизмов *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae* в 28,0% проанализированных урогенитальных мазков (28 из 100). Дисбиоз неуточненной этиологии диагностирован у 11% пациенток (11/100), а снижение степени бактериальной обсемененности - в 8,0% (8/100) случаев. В остальных 53,0% (53/100) образцов отмечался нормальный уровень общей бактериальной массы и *Lactobacillus* spp. (выше 10^6 ГЭ/мл).

Согласно результатам микробиологического исследования, рост патогенной аэробной микрофлоры, ответственной за развитие аэробного вагинита, (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*) наблюдался: во всех случаях выявленного по ПЦР дисбиоза неуточненной этиологии; в 9 из 53 вагинальных отделяемых с нормальным уровнем лактофлоры и в 3 случаях в группе пациенток с установленным бактериальным



вагинозом. Культуры грибов рода *Candida*, возбудители вульвовагинального кандидоза, были выявлены у 17 из 100 (17%) обследуемых женщин, при этом в 6 случаях в сочетании с бактериальным вагинозом (6/28) и в 3 – с аэробной микрофлорой. Микробиологический посев не дал роста микроорганизмов в 9% образцов вагинального отделяемого (9 из 100). Кроме того, проведенные бактериологические исследования не предусматривали выявления анаэробной микрофлоры, требующей особых условий для культивирования, что недостаточно для диагностики бактериального вагиноза.

Выводы. Полученные результаты демонстрируют целесообразность широкого использования теста «АмплиПрайм Флороценоз-Бактериальный вагиноз» (ЦНИИ Эпидемиологии, Москва.) в акушерско-гинекологической практике и доказывают необходимость внедрения в акушерско-гинекологическую практику новых диагностических подходов, разработанных на основе комплексности и обладающих высокой диагностической чувствительностью и специфичностью.

ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ ФРАГМЕНТОВ ГЕНОВ «ОСТРОВОВ» ПАТОГЕННОСТИ УСЛОВНОПАТОГЕННЫХ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ ПРИ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

Хакимова Л.Р., Шамсутдинова Л.Р., Бижбалова Л.О.
*Башкирский государственный медицинский университет,
г. Уфа*

До настоящего времени достаточно высоким остается удельный вес острых кишечных инфекций неустановленной этиологии [1], при которых обнаруживаются условнопатогенные представители семейства *Enterobacteriaceae*. Однако при этом нередко наблюдаются системные воспалительные эффекты, свидетельствующие о патогенетическом значении указанных микроорганизмов [2]. Оказалось, что формирование и изменение патогенного потенциала условнопатогенных энтеробактерий в ряде случаев связано с мобильными генетическими элементами, именуемыми «островами» или «островками» патогенности [3], которые могут служить информативными диагностическими маркерами [4].

Цель исследования. Установить частоту встречаемости фрагментов генов «островов» патогенности в клиническом материале при острых кишечных инфекциях неустановленной этиологии.



При компьютерном анализе нуклеотидных последовательностей использовали пакет компьютерных программ «Lasergene» фирмы «DNASTAR, Inc». ПЦР проводили с использованием стандартных наборов для амплификации ДНК.

Результаты. Исследовано 116 клинических образцов испражнений от пациентов с кишечной инфекцией, этиологию которой установить лабораторным путем не удалось, поскольку культуральным методом в них были обнаружены *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Hafnia alvei* и некоторые другие представители микробиоты человека. Указанное послужило основанием для выделения тотальной ДНК, которая была протестирована при использовании полимеразной цепной реакции и подобранных нами праймеров на предмет обнаружения фрагментов ряда генов «островов» патогенности, а именно: *eae* (кодирующий адгезин – интимин), *hlyA* (кодирует синтез полипептида, связанного с гемолитической активностью), *hlyB* и *hlyD* (кодируют образование белков, участвующих в транспорте гемолизина и его секреции через плазматическую мембрану), *ivu* (фактор персистенции, ингибирующий лизоцим).

При острых кишечных инфекциях неустановленной этиологии фрагменты гена *ivu* обнаружены в 29% клинических образцов, гена *hlyA* – в 20%, гена *hlyB* – в 18%, гена *hlyD* – в 13% и гена *eae* – в 5%.

Таким образом, было показано, что условно-патогенные энтеробактерии крайне гетерогенны по наличию генотипических признаков, среди которых преобладают штаммы с комплексом факторов патогенности. При этом каждый десятый не обладает генотипическими маркерами, необходимыми для проявления патогенности. Нами были созданы и апробированы тест-системы на основе ПЦР для определения генов патогенности представителей *Enterobacteriaceae*.

ВИРОМ ЧЕЛОВЕКА: РАЗНООБРАЗИЕ, ИЗМЕНЧИВОСТЬ И КОНСЕРВАТИВНОСТЬ

Харченко Е.П.

*Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова
Российской академии наук,
Санкт-Петербург*

Развитие нового поколения методов секвенирования генома круто изменило наши представления о разнообразии вирусов человека, заселяющих различные его органы. Вся совокупность этих вирусов в организме именуется как виром, или виробиота. Их жизненный цикл связан с населяющими человеческий организм бактериями, археями, эукариотическими клетками (живот-



ными и растительными) и протекает асимптомно у большинства индивидуумов. Наиболее многочисленны в виrome бактериофаги. В него включены также эндогенные ретровирусы, составляющие до 8% генома человека. Показатели численности вирусов в разных органах заметно варьируют, а оценки их разнообразия затруднительны как по методологическим причинам, так и из-за трудностей их таксономической идентификации, поскольку огромная часть полученных последовательностей не имеет гомологов в существующих базах данных по вирусным геномам. Наряду с различием состава вирома в разных органах, показана вариабельность вирома у разных субъектов. Поскольку в виrome бактериофаги наиболее представительная группа, то очевидно, что динамизм вирома человека в значительной степени будет определяться составом его микробиоты. Огромная заселенность человеческого организма вирусами служит свидетельством того, что взаимодействие вирусов с человеком не ограничено лишь паразитизмом и что некоторые эукариотические вирусы установили персистирующие взаимодействия с их хозяином. Патологические или полезные проявления этих взаимодействий зависят, по-видимому, от локализации инфекции, генотипа хозяина и статуса его иммунной системы, а также от присутствия других вирусов и состава микробиоты.

Высокая скорость размножения вирусов и ошибки в их репликации служат основой их изменчивости. Особенно высока скорость мутирования у вируса иммунодефицита человека, вирусов гриппа, вируса гепатита С. Однако у каждого вируса возможности изменчивости их генома ограничены на разных молекулярных уровнях, что позволяет методами биоинформатики прогнозировать траектории их молекулярной изменчивости.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБИОЦЕНОЗА ПАРОДОНТАЛЬНЫХ КАРМАНОВ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ, АССОЦИИРОВАННОМ С КРАСНЫМ ПЛОСКИМ ЛИШАЕМ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА

Швец К.Ю.^{1,2}, Тамарова Э.Р.², Булгакова А.И.², Мавзютов А.Р.²

¹Башкирский государственный университет,

*²Башкирский государственный медицинский университет,
г. Уфа*

Цель. Характеристика микробиоты пародонтальных карманов у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом на фоне красного плоского лишая слизистой оболочки полости рта.



Материалы и методы. В исследование включено 80 пациентов в возрасте $49,7 \pm 9,32$ лет (38 мужчин и 42 женщины) с хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП) средней степени тяжести, осложненным красным плоским лишаем слизистой оболочки полости рта (КПЛ) (1 группа - 36 человек) и неосложненным (2 группа - 44 человека). Группу сравнения (3 группа) составили 30 здоровых пациентов, обратившихся в стоматологическую поликлинику для плановой санации полости рта.

У всех обследованных отбирали содержимое пародонтального кармана с помощью стерильных бумажных эндодонтических штифтов (размер №25). Тотальную ДНК выделяли с использованием ионообменной смолы Chelex100 и амплифицировали с применением собственных пар видоспецифичных праймеров к наиболее консервативным фрагментам ДНК *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus masacae* на амплификаторе «Терцик МС-2» («ДНК-технология», Москва) с электрофоретической детекцией результатов в 1,7%-ном горизонтальном агарозном геле («Sigma», США) и последующей окраской бромистым этидием, визуализацией в ультрафиолете и фотодокументированием результатов.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием непараметрического критерия χ^2 -квадрат. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Проведенное молекулярно-генетическое исследование показало, что в содержимом пародонтальных карманов от пациентов всех трех групп в 100% случаев выделяются следующие микроорганизмы - *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus masacae*. Однако анализ плотности колонизации этими же видами у пациентов различных групп продемонстрировал, что частота встречаемости каждого микроорганизма в отдельности сильно варьирует.

Установлено, что в содержимом пародонтальных карманов больных ХГП, ассоциированным с КПЛ, достоверно чаще в сравнении с контрольной группой (3 группа) обнаруживались *Porphyromonas gingivalis* (на 46,3%, $\chi^2 = 11,06$, $p < 0,05$), *Treponema denticola* (на 41,4%, $\chi^2 = 9,34$, $p < 0,05$), *Streptococcus sobrinus* (на 37,9%, $\chi^2 = 9,54$, $p < 0,05$), *Streptococcus salivarius* (на 31,2%, $\chi^2 = 9,08$, $p < 0,05$) и *Streptococcus oralis* (на 28,3%, $\chi^2 = 8,47$, $p < 0,05$). Полученные данные напрямую коррелировали с ухудшением стоматологического статуса, гигиенического состояния полости рта (индекс гигиены по Green-Vermillion = $6,13 \pm 1,06$, плохая гигиена), а также со степенью тяжести и активности патологического процесса в тканях пародонта.

Тогда как в группе больных ХГП средней степени тяжести, неотягощенных КПЛ, достоверно чаще, нежели в контроле (3 группа) встречались



Porphyromonas gingivalis (на 30,7%, $\chi^2 = 8,14$, $p < 0,05$), *Treponema denticola* (на 24,5%, $\chi^2 = 6,37$, $p < 0,05$), *Streptococcus sobrinus* (на 22,8%, $\chi^2 = 6,05$, $p < 0,05$) и *Streptococcus oralis* (на 19,3%, $\chi^2 = 6,72$, $p < 0,05$).

При сравнении частоты встречаемости пародонтопатогенных микроорганизмов в содержимом пародонтальных карманов у пациентов исследуемых групп было выявлено, что в группе пациентов с ХГП, отягощенным КПЛ СОПР, достоверно чаще, нежели в группе пациентов с ХГП, неотягощенным КПЛ СОПР, встречаются пародонтопатогенные виды *Porphyromonas gingivalis* (на 28,3%, $\chi^2 = 7,26$, $p < 0,05$), *Treponema denticola* (на 25,2%, $\chi^2 = 6,37$, $p < 0,05$), *Streptococcus sobrinus* (на 20,9%, $\chi^2 = 7,54$, $p < 0,05$), *Streptococcus mutans* (на 19,5%, $\chi^2 = 5,98$, $p < 0,05$) и *Streptococcus sanguis* (на 18,3%, $\chi^2 = 6,47$, $p < 0,05$).

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что видовой состав микробиоты пародонтальных карманов и частота встречаемости отдельных видов пародонтопатогенов при ХГП, ассоциированном с КПЛ и неотягощенном КПЛ достоверно различались и также определялись стоматологическим статусом, гигиеническим состоянием полости рта, степенью тяжести и активностью патологического процесса в тканях пародонта.

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере по программе «УМНИК» на 2016-2017 гг.

МОНОИММУННАЯ ПЛАЗМА – ОДИН ИЗ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ С ИНФЕКЦИОННЫМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ

**Щеглова И.В., Вильянинов В.Н., Романенко С.М.,
Бельгесов Н.В., Скрипай Л.А., Калеко С.П.**

*Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Введение. Проблема устойчивости микроорганизмов к антибактериальным препаратам в настоящее время является чрезвычайно актуальной. У микроорганизмов формируется устойчивость к антибиотикам в том числе и из-за необоснованного их применения в клинической практике. Наиболее часто инфекционные осложнения наблюдаются у больных хирургического профиля, больных с тяжелыми травмами и ожогами. Одним из эффективных средств, обладающим антибактериальным действием, является моноиммунная плазма. Имеется опыт получения и клинического применения иммунной плазмы до 2010 г. в военно-медицинских организациях МО РФ. Проводился скрининг



определения бактериальных антител в «лечебном титре» в плазме крови доноров (иммунная плазма) на наиболее часто встречаемые внутрибольничные инфекции: стафилококковую, синегнойную, колибациллярную, протейную и клебсиелльную.

Появляются все новые и новые виды антибиотиков, которые, по сути, являются производными старых. Все это заставляет изменить подход к назначению и использованию антибиотиков и искать новые решения в лечении и профилактике инфекционных заболеваний.

Цель работы. Разработка метода определения в плазме крови доноров естественных антимикробных пептидов, которые выполняют сложные функции в поддержании и регулировании иммунного ответа на вирусную, микробную и иную антигенную агрессию на основе прямого воздействия на клеточную мембрану микроорганизма, вызывающего разрушения клетки. Показатели содержания иммунной плазмы в составе крови донора рассматриваются как индикатор наличия высокой иммунной (защитной) функции.

Поставленная цель была достигнута нами путем бактериологического тестирования образцов крови (в том числе находящейся на карантине) на выявление антибактериальных антител на конкретную микробную культуру, выделенную от больного.

На стандартные питательные среды (кровяной агар, желточно-солевой агар и др.), приготовленные заранее, проводили посев общепринятым методом бактериальных культур, выделенных от больных (а именно: *E. Coli*, *St. aureus*, *Ps. Aeruginosa*, *Kl. Pneumoniae*). Затем на поверхность засеянных чашек Петри наносили пастеровской пипеткой исследуемые образцы плазмы доноров по 0,05 мл и помещали в термостат. Как правило, на одну чашку Петри наносили 4 образа плазмы. Образцы крови доноров должны соответствовать группе крови больного, от которого выделена бактериологическая культура.

Оценку литической активности плазмы проводили общепринятым методом: отсутствие активности (-), низкая (+), образование зоны лизиса (++) , лизис с единичными колониями вторичного роста (+++), прозрачная зона лизиса (++++).

Результаты. Нами проведены обследования более 100 пациентов, находящихся на лечении в клиниках ВМедА с инфекционными осложнениями.

При этом выявили: *E. Coli* – 92% активность лизиса на ++, +++;

St. aureus – 24% активность лизиса на +, ++;

Ps. aeruginosa – 38% активность лизиса +, ++, +++;

Kl. Pneumoniae – 43% активность лизиса +, ++.

Выводы. 1. В связи с отсутствием в настоящее время в РФ диагностикумов для скринингования пула донорской плазмы на наличие высокого титра антимикробных антител, а также из-за отсутствия профильных нормативно-правовых документов, регламентирующих получение и применение иммунной



плазмы в клинической практике, методом выбора может являться предложенный нами подход в решении данной лечебно-профилактической проблемы, оформленный в виде интеллектуального приоритета (Патент № 2606377 от 12 октября 2015 г.). Метод прост в выполнении, не требует дорогостоящей аппаратуры и специального тренинга для медицинского персонала.

2. Для проведения необходимых исследований требуется только наличие бактериологической лаборатории и штатного сертифицированного врача-бактериолога.

НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ ПОВЫШЕНИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ СТАБИЛЬНОСТИ ПРОДОВОЛЬСТВЕННОГО СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ НА ОСНОВЕ РЫБЫ И НЕРЫБНЫХ ОБЪЕКТОВ ПРОМЫСЛА

Щедрина Н.А., Одегова Н.В., Карцев В.В.

*Научно-исследовательский и проектно-конструкторский институт
по развитию и эксплуатации флота,
Санкт-Петербург*

Актуальность вопросов безопасности продуктов питания возрастает с каждым годом, так как спектр контаминантов различной природы и ассортимент пищевой продукции постоянно возрастают, а обеспечение необходимого для нее уровня качества остается одним из основных факторов, влияющих на здоровье человека.

Управление гигиенической безопасностью продуктов питания и продовольственного сырья входит в число приоритетных задач государственной политики в области здорового питания и является необходимым условием обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

Важнейшим фактором порчи биологического сырья водного происхождения является контаминация его различными видами микроорганизмов.

Целью настоящего исследования являлась оценка уровня общего микробиального загрязнения, а также характера микрофлоры некоторых видов пищевых продуктов из водных биоресурсов, не подвергающихся по ходу технологического процесса тепловой обработки.

Анализ характера микрофлоры продуктов питания из рыбы и нерыбных объектов промысла показал, что в основном даже новые и нетрадиционные виды пищевой продукции из гидробионтов соответствуют гигиеническим тре-



бованиям, регламентируемым СанПиН 2.3.2.1078-01 и Технического регламента Таможенного союза 021/2011 «О безопасности пищевой продукции».

В структуре анализируемых проб преобладала: рыба сырая, соленая, копченая, вяленая, рыбные пресервы и кулинария. Уровень общего микробного загрязнения иногда достигал максимально допустимых значений в отдельных образцах рыбной кулинарии, а также в пробах рыбы соленой и малосоленой. Предельно допустимое содержание дрожжей имело место для пресервов из разделанных океанических рыб с низкой концентрацией поваренной соли в различных соусах и заливках. Спорами плесневых грибов иногда бывают обсеменены различные пищевые компоненты: специи, томат-паста и др., применяющиеся в соответствии с рецептурой при изготовлении широкого ассортимента рыбной продукции. Этим обусловлено выявление плесеней в отдельных случаях в рыбной кулинарии. Что касается прочих видов пищевой продукции, плесневые грибы были обнаружены во внутренностях вяленой и провесной воблы и красноперки при анализе опытных партий данного вида продукции, заложенного на хранение.

На основании результатов исследований разработан Перечень санитарно-гигиенических мер по управлению рисками для обеспечения качества и безопасности нестерилизованной пищевой продукции из биологического сырья водного происхождения. Разработаны рекомендации по предотвращению возможных рисков и снижению уровня микробной контаминации продукции традиционного состава с использованием рыбы и морепродуктов в сыром виде.

Для успешного функционирования системы социально-гигиенического мониторинга качества и безопасности пищевых продуктов необходимо тесное взаимодействие между специалистами здравоохранения, ветеринарии и пищевой промышленности.

ГЕМОКОНТАКТНЫЕ ИНФЕКЦИИ НА ФОНЕ ПСИХИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ В УСЛОВИЯХ МЕГАПОЛИСА

Щербак Н.Я.¹, Улюкин И.М.², Орлова Е.С.²

¹Комитет по здравоохранению Санкт-Петербурга,

*²Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова,
Санкт-Петербург*

Известно, что больные психической патологией представляют группу риска по заболеванию в первую очередь гемоконтактными / парентеральными инфекциями, риск которых тесно связан с девиантным поведением, предпола-



гающим два пути передачи: половой и парентеральный (достоверно установить которые в этой группе лиц не всегда представляется возможным).

Нами проанализированы отчеты по парентеральной инфекционной заболеваемости Психиатрической больницы №1 им. П.П. Кащенко (ПБК) и Психиатрической больницы №3 им. И.И. Скворцова-Степанова (ПБСС) за 2014-16 гг. Различия в показателях, вероятно, связаны с демографическими характеристиками обследованных лиц.

Так, в ПБК преобладающей парентеральной патологией была ВИЧ-инфекция, которая составила в 2014 г. 34,0% от количества больных, лечившихся в инфекционном отделении, в 2015 году 25,9%, 20,4% в 2016 г. Больных с хроническим вирусным гепатитом С в 2014 г. диагностировано 22,9%, в 2015 г. - 23,8%, в 2016 г. - 18,9%.

Летальные исходы не регистрировались.

В ПБСС в инфекционном отделении с ВИЧ-инфекцией на обследовании и лечении в 2014 году находилось 2,3% от количества больных, лечившихся в инфекционном отделении, в 2015 г. - 3%, в 2016 г. - 6,7%. Необходимо подчеркнуть, что в 2015 г. ВИЧ-инфекция выявлена впервые у 7 пациентов (1,2% от лечившихся в инфекционном отделении), в 2016 г. – у 13 (3,1%). С ранее установленным диагнозом хронический вирусный гепатит (ХВГ) различного генеза поступили с диагнозом в 2015 году 682 пациентов (но не все они нуждались в лечении в условиях инфекционного отделения), в 2016 г. – 728; выявлены в стационаре впервые 102 и 107 больных ХВГ, соответственно.

В 2016 г. от инфекционной патологии умерло два больных:

1. М, 35 лет, в анамнезе – наркопотребление и алкоголизация, длительность ВИЧ-инфекции более 10 лет, причина смерти – прогрессирование ВИЧ-инфекции (сепсис в форме септикопиемии с множественными очагами гнойного воспаления в органах желудочно-кишечного тракта с включением грибов рода Кандида; язвенно-некротический ларингит, некротический гастрит, энтерит, колит; двусторонняя очаговая, сливная, бактериально-грибковая бронхопневмония; множественные язвы: волосистой части головы, задней поверхности туловища, нижних конечностей; паренхиматозная дистрофия миокарда, печени, почек; множественные микрокистозные изменения ткани головного мозга с атрофией нейронов, отеком; распространенный кандидоз ротоглотки, кожи; низкий иммунный статус - CD4 9% - 122/мкл, высокая вирусная нагрузка - 682993 коп./мл);

2. М, 34 лет, в анамнезе – наркопотребление и алкоголизация, длительность ВИЧ-инфекции более 10 лет, причина смерти – прогрессирование ВИЧ-инфекции (двусторонняя госпитальная бронхопневмония; хронические гепатиты В и С; вскрытие не проводилось по причине отказа родственников; низкий иммунный статус - CD4 20% - 272/мкл, высокая вирусная нагрузка - 59785 коп./мл).



Таким образом, необходимо уделять особое внимание диагностике и лечению парентеральных инфекций, а также повышению качества подготовки всех категорий медицинских работников по вопросам инфекционной патологии. Необходимо расширить проведение профилактических программ по ВИЧ-инфекции и парентеральных вирусных гепатитов с привлечением городских социально ориентированных НКО как среди общего населения, так и среди представителей ключевых групп для снижения темпов распространения парентеральных инфекции; а также усовершенствовать систему учета и контроля за выявлением больных парентеральными инфекциями, их регистрацией, диспансеризацией, контролем назначения и эффективности проведения дорогостоящего лечения.

**ВСЕРОССИЙСКОЕ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЕ
ОБЩЕСТВО ЭПИДЕМИОЛОГОВ,
МИКРОБИОЛОГОВ
И ПАРАЗИТОЛОГОВ**

СТАТЬИ



РОЛЬ АВТОМОБИЛЬНОГО ТОПЛИВА В ЗАГРЯЗНЕНИИ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА

Абдувалиева Ф.Т.¹, Эргашев Р.Н.²

¹Ферганский филиал Ташкентской медицинской академии,

²Ферганский политехнический институт,

г. Фергана, Республика Узбекистан

Аннотация. В статье рассмотрена оценка экологичности топлива в автомобилях для предотвращения загрязнения воздуха. Анализированы требования к автомобильному топливу, 2-й, 3-й, 4-й и 5-й экологический класс.

Ключевые слова: автомобиль, бензин, экологический класс, кислород содержащий компонент, октановое число, экспресс метод.

В настоящее время изменения окружающей среды вышло на качественно новый уровень. Развитие промышленности и транспорта, увеличение производства и потребления энергии, интенсификация и химизация сельского хозяйства, быта, урбанизация и рост городов, формирование территориально-производственных комплексов производят к такому загрязнению окружающей среды, которые уже непосредственно влияют на состояние здоровья и заболеваемость населения региона. В связи с этим фундаментальные гигиенические исследования приобрели новое направление выявления количественных связей изменения факторов окружающей среды с особенностями нарушения состояния здоровья населения на пред патологических и патологических уровнях организма [1-5].

На всех стадиях своего развития человек был тесно связан с окружающим миром. Люди не ценят, и берут то, что у них есть, то, что дает жизнь: воздух, воду, землю. Не думая о будущем своих детей, внуков, правнуков, они заботятся о том, чтобы им было удобнее и легче в жизни, не понимают, что за этим последует. Источники загрязнения бывают как природные, так и антропогенные... Но, по сравнению с природными источниками загрязнения, антропогенные приобретают глобальный характер [3-4].

В последнее десятилетие антропогенные факторы загрязнения атмосферы стали особо опасными, к основным источникам загрязнения относятся: транспорт, промышленные предприятия, теплоэнергетика и др [5].

Автомобиль – не роскошь, а средство передвижения. Это известно всем. Но то, что машины из блага цивилизации может превращаться в ее бич, человечество стало понимать сравнительно недавно. Чем больше машин выходят на улицы, тем труднее горожанам мирно сосуществовать с их стальным гудящим и гадящим потоком. В выхлопах двигателей внутреннего сгорания содержатся



ся окись углерода, окись азота, углеводороды, альдегиды, сажа, бензапирен, тяжелые металлы. Окись углерода попадая в кровь, так действует на красные кровяные шарики- эритроциты, что они теряют способность транспортировать кислород. В результате наступает кислородное голодание, что прежде всего сказывается на центральной нервной системе. Когда мы вдыхаем окислы азота, они в дыхательных путях соединяются с водой и образуют азотную и азотистую кислоту. В результате возникают не только раздражения слизистых, но и весьма тяжелые заболевания. Считается, что окислы азота в 10 раз опаснее для организма, чем окись углерода.

Бензин автомобильное топливо, которое мы ежедневно используем. Интересно, а многие ли из нас задумываются какой экологический класс топлива, которое мы заливаем в бак своего авто? Ну с октановым числом тут все понятно, а вот что на счет экологичности? Кстати, чем выше класс, тем дороже топливо. Из СМИ уже не первый год вещают, что узбекские производители топлива переходят на экологический стандарт Евро 3, потом на Евро 4 и вот уже грозятся Евро 5. Но если разобраться, то само понятие “евро” – просто пустой звук. На самом деле, Евро-стандарты относятся только к транспортным средствам, а топливо делиться на классы. И по закону, на АЗС (авто заправочные станции) должны указывать не только октановое число бензина, но и его экологический класс. Но на наших заправках, как правило, этот параметр игнорируется.

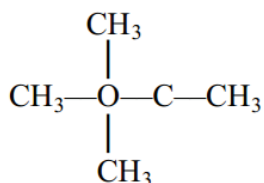
Стоит заметить, что в Узбекистане, да и на всей территории СНГ действуют требования к автомобильному топливу (и к судовому и к реактивному), согласно которому горючее классифицируется на 2-й, 3-й, 4-й и 5-й экологический класс. Причем не стоит относить эти цифры к октановому числу. Например, Аи-98 может иметь экологический класс всего 3, а Аи 95 – 5-й. И разница тут не только в стоимости, хотя для нас это наиболее важный аспект, разница в количестве присадок (эфирных и азотсодержащих), а так же в количестве серы. И чем меньше их в топливе, тем менее токсичен выхлоп авто для окружающей среды и наоборот. Кстати, тех, кого мало интересует окружающая среда, можно огорчить другим способом – чем ниже класс, тем быстрее выходят узлы двигателя и его систем из строя. Повышенное содержание серы согласно действующего технического регламента предусмотрено, что для топлива 2-го экологического класса содержание серы может достигать до 500 мг на 1 кг, а объемная доля монометиланилина (ММА) не должна превышать 1.3%. Для бензина и солярки 3-го класса – до 150 мг/кг серы и до 1% ММА. 4-й класс – 50 мг/кг и так же 1% ММА. Самое экологичное топливо на сегодняшний день – 5-й экологический класс содержит не более 10 мг/кг серы а ММА в нем вообще не должно быть. С 1-го января 2013 года топливо 2-го класса в нашей стране запрещено, а со следующего года планируют запретить 3-й класс. Тенденция такова, что в 2015 году останется только топливо 5-го экологического класса.



Вышеупомянутый техрегламент обязывает предоставлять на заправках информацию о классе топлива, причем эти данные должны отображаться на информационных щитах и указываться в чеке. Правда, этих правил придерживаются лишь крупные АЗС. А что касается остальных, то не секрет, что “поддельное” топливо льется регулярно!!! Так что если Вы нашли по соседству недорогую заправку, то не стоит радоваться дешевизне бензина. Откровенная фальсификация для наших дельцов совсем не редкость. Например, если в 400 тонн бензина Аи-92 всыпать мешок ферроцена, то он “превращается” в 95-й, что очень прибыльно для заправки. И не смотря на то, что ферроцен официально запрещен, то только в самой Фергане можно обнаружить его на 7-8% заправок! По области эта цифра уже выше – 13-17%. И это еще неизвестно, кто и как проверял заправки, может их гораздо больше. Кстати, сам ферроцен для человека практически безопасен, но он увеличивает время сгорания топлива, что снижает КПД двигателя, а остатки несгоревшего бензина догорают в выхлопной системе и быстро “убивают” катализатор. Отмечено, что при заправке автомобиля бензином 4-го и 5-го экологического класса, проблемы с топливной системой снижаются на 60-70%.

Что бы уберечь свой авто, при заправке требуйте информацию о топливе, читайте таблички на кассах и то, что написано в чеке. Помните, что высокооктановое топливо не обязательно самое экологичное и дорого 98-й бензин может содержать запрещенные примеси. Но есть такие примеси такие как метилтретичнобутиловый эфир (МТБЭ) не только высокой агрессивности по отношению к резинам так же есть нейтрализующие свойство что приводит высокой экологичности топлив [2].

МТБЭ – считается наиболее перспективным компонентом.



На основании положительных результатов государственных испытаний в Узбекистане разрешено производство и применение автобензинов с содержанием МТБЭ до 15%. Ограничение установлено из-за относительно низкой теплоты сгорания и высокой агрессивности по отношению к резинам. Дорожные испытания показали, что неэтилированные бензины с 7...8% МТБЭ при всех скоростях движения превосходят товарные бензины. МТБЭ – бесцветная, прозрачная жидкость с резким запахом. Температура кипения 48...55°C, плотность – 740...750 кг/м³, октановое число по исследовательскому методу 115...135.



Производство МТБЭ исчисляется в мире десятками миллионов тонн.

Среди других эфиров в качестве компонентов к автомобильному бензину рассматриваются: этилтретбутиловый эфир (ЭТБЭ), третамилметиловый эфир (ТАМЭ), простые метиловые эфиры, полученные из олефинов С6-С7. Среди спиртов: метиловый спирт, этиловый спирт, вторичный бутиловый спирт (ВБС) и третбутиловый спирт (ТБС).

Бензины АИ-95 и АИ-98 обычно получают с добавлением кислород-содержащих компонентов: МТБЭ или его смеси с третбутиловым спиртом (ТБС), получившей название Фэтерол — торговое название «Октан-115». Недостаток всех этих компонентов заключается в том, что в жаркую погоду эфир из бензина улетучивается, что вызывает уменьшение октанового числа бензина.

В заключении можно сказать, что во многих химико-аналитической лабораториях Республике Узбекистан, разрабатывают экспресс метод определения присадок в топливе и на его основе создан специальный тест – полоски. Суть проверки проста – из пистолета в котором остались капли бензина от предыдущей заправки капнуть на индикатор и посмотреть на изменение цвета полоски. Если цвет поменялся – значит имеются запрещенные присадки ускоряет прогорание клапанов, а такая присадка как монометиланилин активно откладывается во впускной системе, со временем засоряя форсунки и инжектор. Таким образом определяется экологический класс топлива.

Литература:

1. *Авалиани С.Л., Буштуева К.А. «Гигиена и санитария» -2002- №6 стр. 21-25.*
2. *Е.В. Бойко “Химия нефти и топлив” Учебное пособия Ульяновск 2007 г.*
3. *Искандарова Ш.Т., Убайдуллаев Р. «Руководство по контроль за загрязнением атмосферного воздуха и методика изучения здоровья населения», Т., 1995.*
4. *Искандарова Ш.Т.» Охрана атмосферного воздуха и здоровья населения в Республике Узбекистан, Т., 2000.*
5. *Новиков Ю.В., Бекназов Р.У. «Охрана окружающей среды», М., 1983.*



КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ИММУНОКОРРЕГИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ ПРИ РЕЦИДИВИРУЮЩИХ БРОНХИТАХ У ДЕТЕЙ

Арипова Д.Р.

*Ташкентский Педиатрический Медицинский Институт,
г. Ташкент, Республика Узбекистан*

Резюме. В статье приведен сравнительный анализ клинико-иммунологических данных детей, с рецидивирующим обструктивным бронхитом до и после лечения с использованием в комплексном терапии иммунокорректирующего препарата с сравнении с традиционным лечением.

Ключевые слова: рецидивирующий бронхит, дети, иммунокоррекция, цитокины.

Key words: recurrent bronchitis, children, immunotherapy, cytokines.

Актуальность. О рецидивирующих бронхитах можно говорить в тех случаях, когда в течение года отмечается не менее 3 эпизодов бронхита [3]. Рецидивирующие обструктивные бронхиты имеют большой удельный вес в респираторной патологии детей и характеризуется относительно длительным течением с обострением длительностью до 3-4 и более недель. Клинические признаки острого респираторно-вирусного заболевания, нередко отмечающегося в начале рецидива бронхита и, возможно, обусловившего рецидив, ликвидируются обычно намного раньше. В подавляющем большинстве случаев рецидивы бронхита приходится на холодное время года – осенне-зимне-весенний период. Инфекции респираторного тракта занимают первое место в детской инфекционной патологии и доставляют много проблем врачам-педиатрам, родителям и самим детям [4]. Около 80% детей обращаются на прием к иммунологу именно по поводу рецидивирующих респираторных заболеваний. На частоту инфекций влияет целый комплекс факторов, включая анатомо-физиологические особенности респираторного тракта у детей, запаздывания развития иммунной системы, социальные условия жизни (питания, бытовые условия), а также состав микрофлоры дыхательных путей. Ряд исследователей указывают на нарушение клеточного и гуморального иммунитета у данной группы больных [1,3,5]. В связи с этим изучение состояния иммунитета и его эффективная коррекция является одним из путей профилактики хронических бронхолегочных заболеваний у детей, больных рецидивирующими бронхитами [2].



Цель. Обосновать эффективность применения иммунокорректирующей терапии на примере препарата «полиоксидоний» в комплексном лечении рецидивирующего обструктивного бронхита у детей.

Материалы и методы исследования. Исследование проводилось на базе ГДКБ № 1 города Ташкента. Нами было проведено обследование 21 детей в возрасте от 1 до 5 лет с диагнозом рецидивирующий обструктивный бронхит, находившихся на стационарном и амбулаторном лечении. Для определения эффективности предлагаемой терапии, обследованные нами больные, были распределены на 2 группы: основная группа больных была сформирована из 11 детей, с установленным диагнозом рецидивирующий бронхит, в составе комплексной терапии был назначен иммунокорректирующий препарат полиоксидоний по 0,1 мг/кг в течение 10 дней внутримышечно на курс 5 инъекций. Группа сравнения была сформирована из 10 человек с аналогичным диагнозом, получающих лечение без применения полиоксидония. Всем больным было проведено полное клиническое обследование (осмотр, аускультация, пальпация, перкуссия), а также проведено иммунологическое обследование, которое включало определение уровней интерлейкинов IL-1 β , IL-1Ra, IL-6 в крови. Исследование проводили методом иммуноферментного анализа с помощью стандартного набора реагентов «ИЛ-1 β -ИФА-БЕСТ»; «ИЛ-6-ИФА-БЕСТ»; «ИЛ-1Ra-ИФА-БЕСТ» (Россия).

Результаты и обсуждение. При обследовании больных с рецидивирующим обструктивным бронхитом обращали внимание на общее состояние, наличие характерных для них жалоб, выясняли физикальные данные легких, внутренних органов, а также наличие других хронических очагов инфекций. Диагноз рецидивирующий обструктивный бронхит устанавливался на основании анализа анамнестических данных, объективного осмотра с выявлением общих признаков заболевания.

Клинический осмотр больных проводился с учетом всех признаков. Основные клинические симптомы отмечаемые у обследованных больных: у 13 (61,9%) больных отмечалось повышение температуры до субфебрильных значений, слабость возникала практически у всех больных и составила 95,3%. Совместно с отоларингологами при тщательном осмотре детей было выявлено, что кроме рецидивирующего обструктивного бронхита у детей наблюдались хронический риносинусит, который был выявлен у 13 (61,9%) обследованных больных, у 18 (85,7%) детей хронический тонзиллит, аллергические проявления, выявленные совместно с аллергологами данной клиники в виде аллергического ринита, атопического дерматита, пищевой аллергии отмечались практически у всех обследуемых больных и показатель составил 64,7%. Кашель имел самый разнообразный характер и наблюдался у всех обследуе-



мых больных. Чаще он был влажный, иногда сухой, носил приступообразный характер. Сухой кашель беспокоил 45,1% пациентов, а влажный кашель отмечался у 54,9% больных. Продолжительность кашля составляла около 3-4 недель, иногда больше. Одышка экспираторного характера наблюдалась у 46% больных. Из физикальных признаков отмечаются диффузные влажные и сухие свистящие хрипы самого разнообразного звучания, изменчивые по характеру и локализации. Наличие жесткого дыхания и хрипов отмечалось у всех обследуемых больных.

Кроме клинического обследования, нами определено количественное содержание иммунологических показателей цитокинов IL1 β , IL1-RA и IL-6 у 20 детей, больных рецидивирующим обструктивным бронхитом. IL-1 β , IL1-RA и IL-6-многофункциональные цитокины с широким спектром действия, играющие ключевую роль в развитии и регуляции неспецифической защиты и специфического иммунитета, одни из первых включается в защитную реакцию организма при действии патогенных факторов. Изучение профиля цитокина IL-1 β , его физиологического антагониста IL1-RA и IL-6 в лаборатории иммуноцитокринов у обследованных нами детей с рецидивирующим обструктивным бронхитом показало, что у большинства пациентов отмечалось более чем 2-х кратное увеличение IL-1 β при сниженном показателе рецепторного антагониста. В среднем показатель IL-6 составил 8,9 \pm 0,7 пг/мл, IL-1 β 6,9 \pm 0,5 пг/мл, показатель IL1-RA 81,2 \pm 5,1 пг/мл, при контрольных данных группы здоровых детей IL-1 β 2,55 \pm 0,68 пг/мл, IL1-RA 104,5 \pm 2,0 пг/мл и IL-6 6,1 \pm 0,35 пг/мл соответственно. Баланс между цитокинами играет важную роль в защите организма от инфекционных агентов (вирусы, бактерии) и ограничении дальнейшего повреждения пораженных тканей, вызванных воспалительными реакциями организма. Выявленное у обследованных нами больных повышенное содержание цитокинов является неблагоприятным прогностическим признаком, характеризующее усугубление патологического процесса, а также распространение воспалительных реакций на организм в целом. Нестабильные показатели цитокинов негативно сказываются на течении рецидивирующего бронхита и сопутствующих заболеваний и требуют соответствующей иммунологической коррекции[2].

Традиционное лечение, которое было использовано в обеих группах включало создание оптимального воздушного режима, устранение нарушений бронхиальной проходимости, снижение реактивности бронхов, назначение муко- и секретолитиков, бронхолитиков, преимущественно в виде ингаляций. Противовирусную и антибактериальную терапию назначали по показаниям курсом на 5-7 дней. Достаточное количество жидкости, физиотерапевтические процедуры, улучшающие крово- и лимфообращение в легких и бронхах, мас-



саж, ЛФК, при необходимости – санация носоглотки. Детям с аллергическими проявлениями создавали щадящий антигенный режим: назначение элиминационных диет, ограничение контакта с аллергенами. Медикаментозную и немедикаментозную терапию проводили согласно принятым стандартам лечения рецидивирующего бронхита.

Изучена динамика клинической картины и проведен анализ продолжительности клинических симптомов у детей с рецидивирующим бронхитом при включении в традиционную терапию иммунокорректирующего препарата полиоксидоний по 0,1 мг/кг препарата в/м №5 через день в течении 10 дней. Переносимость полиоксидония в основной группе была хорошей. Побочных реакций нами не было отмечено. Анализ данных исследования показал более быструю положительную динамику клинических проявлений в основной группе больных у детей, получивших вместе с традиционной терапией препарат «полиоксидоний», уже на 3-й день терапии зафиксированы нормальные цифры температурной реакции, повышение аппетита, уменьшение одышки, улучшение общего самочувствия больных в отличии от детей из контрольной группы. Уменьшился кашель, такие симптомы как боль в горле или слизистое отделяемое из носа прекратилось на 2 день применения комплексной терапии. Из физических признаков аускультативно выявлялось снижение количества влажных и сухих хрипов. Ухудшение состояния и течения заболевания ни у одного больного не отмечалось.

При сравнении иммунологических показателей цитокинов, у обследуемых больных до лечения и после лечения, было выявлено, что в основной группе, получивших в комплексной терапии полиоксидоний, отмечается положительная динамика показателей IL1 β , IL-6 и IL1-Ra и приближение к нормативным показателям. Так показатель IL-1 β в основной группе до лечения составлял 6,2 \pm 0,2 пг/мл, а после лечения снизился в 2 раза и составил 3,2 \pm 0,5 пг/мл и приблизился к нормальным показателям группы здоровых детей, IL-6 и IL1-Ra также приблизились к нормативным показателям и составили 6,9 \pm 0,7 пг/мл и 96,4 \pm 0,3 пг/мл соответственно. Тогда как в группе сравнения, получивших только терапию без иммунокорректирующего препарата полиоксидония, показатель IL-6, IL1 β и IL1-Ra изменился незначительно, так в группе сравнения показатель IL-1 β до лечения составлял 6,2 \pm 0,2 пг/мл, а после лечения составил 5,92 \pm 0,2 пг/мл, IL-6 и IL1-Ra также практически не изменились и составили 8,1 \pm 0,4 пг/мл и 89,7 \pm 4,3 пг/мл соответственно.

Всех обследуемых больных из основной и контрольной группы держали на учете и имели с ними непрерывный контакт для установления длительности ремиссии заболевания после проведенной терапии. В результате в группе боль-



ных получивших комплексную терапию с включением полиоксидония длительность ремиссии рецидивирующего обструктивного бронхита составила: 14 месяцев у 7(63,6%) больных, 11 месяцев у 3(27,3%) больных, 6 месяцев у 1(9,1%) больного, в контрольной группе больных находящихся только на традиционной терапии ремиссия обструктивного бронхита наблюдалась у 3(30%) больных в течении 7 месяцев, у 6(60%)больных в течении 5 месяцев и 1(10%) больной обр-атился повторно в клинику через 1 месяц.

Выводы. Таким образом, проведенные клинико-иммунологические исследования больных рецидивирующим бронхитом до и после лечения показали, что включение полиоксидония в комплексную терапию детей, больных рецидивирующим обструктивным бронхитом, благоприятно отражается на клинической картине заболевания, снижению количества койко-дней пребывания в стационаре, способствует увеличению длительности ремиссии, профилактике обострений сопутствующих инфекционно-воспалительных заболеваний. Улучшения в клинической картине заболевания, сопровождаются положительной динамикой иммунологических показателей по окончании лечения. Это свидетельствуют о необходимости включения в комплекс лечения у детей иммунокорректирующей терапии полиоксидонием с учетом клинической картины и индивидуальной иммунологической реактивностью, с целью оптимизации лечения, возможности добиться значительного терапевтического эффекта и контроля заболевания, тем самым улучшить качество жизни больных.

Литература:

1. Учайкин В.Ф. Особенности лечения и профилактики у детей с рецидивирующими инфекциями респираторного тракта. *Педиатрия*. 2009; 87 (1). – С. 134–136.
2. Хаитов Р. М., Пинегин Б. В. Основные принципы иммуномодулирующей терапии // *Аллергия, астма и клиническая иммунология*. - М., 2000. - № 1. - С. 9-16.
3. Ярцева М.И., Яковлева К.И., Плахтиенко М.В. Иммунная недостаточность и часто болеющие дети // *Педиатрия*. 2006, том 08.
4. Feasibility of influenza immunization for inner-city children aged 6 to 23 months /R.K.Zimmerman, A.Hoberman, M.P.Nowalk. et al. // *Am. J. Prev. Med.*- 2008.- Vol.27, N 5.- P.397-403.
5. Giorgi Rossi P., Faustini A., Spadea T., Perucci C.A.. Choosing immunisation coverage indicators at the local level // *Eur. J. Epidemiol.* - 2004. - Vol.19. - N 10. - P.979-985.



ФАКТОРЫ РИСКА И ЗДОРОВЬЕ РАБОТАЮЩИХ АЗОТНЫХ МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ

Ашурова М.Д.

Ферганский филиал Ташкентской медицинской академии,
г. Фергана, Республика Узбекистан

Аннотация. В данной статье рассматривается интегрированная оценка влияния комплекса наиболее вероятных риск - факторов в отдельных возрастно-половых и профессиональных группах и выявлена взаимосвязь между медико-социальными характеристиками заболеваемости работающих и образом жизни в семье. Установлено дифференцированное влияние условий труда и образа жизни на заболеваемость работающих основных цехов.

Ключевые слова: образ жизни, промышленно-производственные условия, гигиеническая оценка, заболеваемость, микроклимат.

Key words: lifestyle, industrial production conditions, hygienic assessment of incidence, microclimate.

Здоровый образ жизни (ЗОЖ) является основой профилактики заболеваний и укрепления здоровья работающих. Современная концепция ЗОЖ определяет его как осознанное, в своей необходимости, постоянное выполнение гигиенических правил укрепления и сохранения индивидуального и общественного здоровья [10].

Накоплено множество фактических данных о связях между отдельными проявлениями условий жизни и специальными характеристиками здоровья населения, в том числе в различных проявлениях образа жизни и поведения рассматриваемых групп населения [1,5,8].

В последнее десятилетие исследования по проблеме «Условия жизни и здоровье» систематически ведутся на всех уровнях общественного устройства, осуществляется выявление групп риска и размеры его распространенности, разработка мер, снижающих или устраняющих влияние этих факторов риска [3].

Подкрепляются утверждения, что достижение определенного материального благополучия существенно влияет на здоровье, гигиеническое поведение и образ жизни населения [2,4,6,7].

В литературе в основном преобладает тиражирование общих положений, сформулированных ВОЗ, согласно которым вклад социальных факторов составляет около 50%, биологических факторов – около 20%, антропогенных – до 20% и медицинского обслуживания – до 10%. Достаточно близкие данные приводятся и другими авторами.



Из приведенных данных ясно, что важной задачей гигиенистов труда является проведение социально-гигиенических исследований, направленных на всестороннее изучение причин общей и профессиональной заболеваемости и инвалидности работающих в ведущих отраслях народного хозяйства с целью разработки широкого круга санитарных и социальных мероприятий по их снижению. В процессе таких исследований определяется роль социальных, бытовых, профессиональных факторов и образа жизни на заболеваемость трудящихся.

Материалы и методы. В соответствии с поставленными задачами были применен комплекс методов исследования, характеризующий условия труда, образ жизни и заболеваемость работающих, занятых в производстве аммиачной селитры на двух крупных предприятиях Узбекистана – п/о «Азот» г. Ферганы и ЧПО «Электрохимпром» г.Чирчика. Для изучения технологического процесса была определена тактика санитарно -гигиенических исследований. При этом изучалось состояние воздушной среды производственных помещений (загазованность воздуха), метеорологические условия (температура, относительная влажность и скорость движения воздуха) и интенсивность шума.

В целях изучения состояния здоровья работающих, занятых в производстве азотных удобрений проводили углубленный анализ заболеваемости с временной утратой трудоспособности. Определены относительные показатели на 100 работающих по случаям и дням нетрудоспособности, удельный вес отдельных нозологических форм и заболеваний, а также зависимость их от пола, стажа, возраста и профессиональной принадлежности.

Для изучения зависимости состояния здоровья от социально-бытовых условий и образа жизни проводили опрос 2000 работающих основных цехов. В качестве контрольной группы обследованы служащие заводоуправления тех же предприятий, не имеющие контакта с химическими веществами в условиях производства (всего 1000 служащих)

Полученные ответы вносились в разработанную нами «Анкету изучения условий и образа жизни рабочего».

Результаты и обсуждение. Для оценки значимости факторов образа жизни и промышленно-производственных условий, все работающие были разделены на группы болевших, длительно и часто болеющих и не болеющие группы. Причем у болевших лиц изучена кратность трудоспособности за календарный год. Так, как располагая данными о болевших лицах и случаях нетрудоспособности исследователь имеет возможность для каждой возрастно-половой и профессиональной группы отсчитать лица, которые в течение года не теряли трудоспособности или ее утрачивали в связи с болезнью 1, 2, 3, 4 раза и более.

Следует отметить, что в среднем на 2 предприятиях на 100 круглогодных рабочих приходилось 24,0 не болевших и 76,0 болевших лиц, причем



показатели частоты лиц, болевших 1 раз, составляли 37,7%, 2 раза – 28,7%, 3 раза – 21,4%.

Показатель частоты часто болевших лиц по обоим предприятиям, в среднем составил- 9,5%. Следовательно, на предприятиях со схожими условиями производства промышленно-производственных факторов заболеваемость с временной утратой трудоспособности не имеет существенных различий.

Анализ данных социологических исследований, по изучению условий и образа жизни работающих показал, что обследованные нами работающие, в основном, проживали в хороших и удовлетворительных жилищных условиях, имели собственный дом или собственную квартиру.

В исследовании также проводилась оценка влияния различных факторов образа жизни в зависимости от семейного статуса работающих и характера их семейных отношений, которые подразделялись на дружеские, не всегда спокойные, плохие.

В целом следует отметить, что мужчины чаще, чем женщины, оценивают семейные отношения как «дружеские» (65% против 35%). Наоборот, женщины чаще, чем мужчины оценивают отношение как «не спокойные» - 73% против 27% ($p < 0,05$). Это, по-видимому, указывает на различия психологического характера в оценке степени значимости семейных отношений как в субъективном плане, так и в плане их влияния на стабильность семьи в целом.

При анализе режима питания было выявлено, что большое число обследуемых питались не рационально. Всего из числа обследованных – 54,7% питались двухразовым горячим питанием, 23,6% – указали на одноразовое горячее питание; 51,7% опрошенных предпочтение отдавали углеводной пище (мучным блюдам), после мучных блюд предпочтение отдавалось мясным блюдам, причем особенно среди мужчин (41,4% мужчин против 20,3% женщин), 21,1% обследованных на работе питались в сухомятку. 46,6% приносят бутерброды и готовые блюда из дома. 30,1% мужчин и 15,5% женщин часто потребляли острые и соленые блюда, 70,1% мужчин и 80,3% женщин – жирные.

Известно, что занятия физической культурой и спортом значительное влияние оказывают на физическую активность человека и на состояние его здоровья. Относительно небольшое число работающих (15,1%), занимались физической культурой регулярно. Работающие, занимающиеся нерегулярно физкультурой и спортом составляли 31,3%. Относительно высока доля лиц, совсем не занимающихся физкультурой и спортом (53,6%).

Основной контингент обследуемых состоял из работающих имеющих 8 и более лет стаж работы (41,6%). 24,4% имели стаж от 5 до 8 лет, 18,3% - от 3 до 5 лет, и лишь 15,7% имели стаж работы до 3 лет.

Изучение влияния семейного положения на заболеваемость выявило, что среди одиноких работающих, длительно и часто болеющие встречались в 18,5% случаев, а не болеющие- 7,5% случаев ($\chi^2 = 975$, $p < 0,05$). Воздействие



внутрисемейных отношений на заболеваемость работающих подтверждались увеличением риска заболевания среди работающих из неблагополучных семей.

Так более, чем половина (53,1%) ДЧБ проживали в психологическом отношении, в неблагополучных семьях, тогда как 80,5% не болеющих проживали в благополучных семьях ($\chi^2 = 37,4$, $p < 0,001$). При этом выявлена существенная обратная взаимосвязь ($r = -0,65 \pm 0,01$) между психологическим климатом семьи работающих и их заболеваемостью. Следовательно, фактор психологического климата семьи оказывает значительное влияние на заболеваемость работающих.

Отмечена существенная зависимость между кратностью заболеваний работающих и повышенным уровнем запыленности и загазованности рабочей зоны ($\chi^2 = 6,10$, $p < 0,05$).

Изучение объективного состояния здоровья путем анализа ЗВУТ, с выделением контингента ДЧБ во взаимосвязи с характером взаимоотношений в коллективе и степенью удовлетворенности работой, выявили существенную их зависимость. при удовлетворительных взаимоотношениях в коллективе удельный вес ДЧБ оказался достоверно выше (38,3%), чем не болеющих работающих (20,0%) ($p < 0,01$).

Факторы производственной среды, в особенности химические, в промышленности азотных удобрений в той или иной степени могут являться причиной повышенной утомляемости, снижения работоспособности, т.е. оказывают неблагоприятное влияние на состояние здоровья работающих, обуславливая высокий уровень заболеваемости с ВУТ, снижая тем самым эффективность производства в целом. Изучение повторных случаев утраты трудоспособности по поводу той или иной формы болезни, в зависимости от выраженности влияния вредных факторов на заболеваемость работающих основной и контрольной групп (ИТР) показали, что в формировании показателей болеющих лиц и случаев нетрудоспособности, немаловажные значения имеют вредные условия труда. Анализ показателей частоты случаев среди лиц болеющих 1, 2, 3 раза и более, а также распределение обследуемых по основным цехам предприятий минеральных удобрений, показали, что в основных цехах (цех аммиачной селитры, слабой азотной кислоты и синтеза аммиака) на 100 круглогодичных рабочих число не болеющих оказалось существенно ниже, а число ДЧБ выше, чем в контрольной группе ($p < 0,01$, $p < 0,05$).

Таким образом, результаты наших наблюдений подтверждают, что хорошие жилищные условия, семейное положение (полная семья), благоприятный психологический климат семьи, высокий уровень образования, соблюдение режима питания и отдыха, занятия физкультурой и спортом не только положительно влияют на состояние здоровья, но в той или иной мере влияют на снижение уровня ДЧБ, среди работающих. Тогда как, отсутствие вышеперечисленных факторов, наличие и выраженность вредных привычек, способствуют



ухудшению состояния здоровья, увеличению уровня заболеваемости с ВУТ, а также формированию контингента ДЧБ работающих. Вредные условия производства работающих в основных цехах оказывают отрицательное влияние на состояние их здоровья, снижают резистентность организма, увеличивают риск формирования и развития различных заболеваний, что следует учитывать при разработке лечебно-оздоровительных и профилактических мероприятий.

Выводы. 1. Изучение гигиенических условий труда, проведенное на двух крупных предприятиях Узбекистана п/о «Азот» г.Ферганы и ЧПО «Электрохимпром» г.Чирчика, производящих азотные минеральные удобрения позволили выявить ряд неблагоприятных производственных факторов, действие которых на организм работающих определялся характером технологического процесса, его организацией, размещением и несовершенством оборудования. На отдельных рабочих местах отмечался повышенный уровень шума и вибрации.

2. В структуре заболеваемости с временной утратой трудоспособности работающих обеих предприятий (гг. Фергана и Чирчик), основными являлись болезни органов дыхания, костно-мышечной системы, системы кровообращения, органов пищеварения, нервной системы и органов чувств, травмы и отравления.

3. Выявлено, что со стажем работы на промышленных предприятиях минеральных удобрений (8 и более лет) уровень заболеваемости более чем в 3 раза выше, чем в начальных стажевых группах. Установлена прямая сильная корреляционная связь между стажем работающих и уровнем их заболеваемости ($Чх/у=0,80+0,1$ и $Чх/у=0,81+0,1$). Следовательно, с увеличением стажа работы под воздействием неблагоприятных производственных факторов увеличивался уровень заболеваемости работающих.

4. Выявленные факторы риска дают возможность составить социально-гигиенический «портрет» ДЧБ - это работающий, проживающий в неудовлетворительных жилищных условиях, как правило одинокий и разведенный, имеющий в неблагополучный психологический климат в семье; с плохими взаимоотношениями с членами коллектива на работе, с низким уровнем образования, не соблюдающий режима питания, отдыха, не занимающийся физкультурой и спортом, имеющий вредные привычки, не внимательно относящиеся к своему здоровью, с большим стажем работы и наличием вредных производственных факторов, а также с физическим и умственным перенапряжением.

Предложения. 1. Система профилактики профессиональной заболеваемости и снижение уровня общей заболеваемости работающих предприятий азотных минеральных удобрений должна строиться поэтапно и включать находящиеся в тесной взаимосвязи мероприятия технического и санитарно-технического, санитарно-гигиенического и социально-медицинского характера.

2. Технические и санитарно-технические мероприятия должны включать: совершенствование технологического оборудования, соблюдение регла-



ментов и непрерывности технологического процесса, проведения своевременного и качественного предупредительного ремонта оборудования; повышения герметичности аппаратуры и коммуникаций; оборудование местной вытяжной механической вентиляцией у мест выделения паров, газов и пыли, повышение ее эффективности за счет большего укрытия и создания соответствующих скоростей и др.

3. Проведения санитарно-гигиенических мероприятий включают: регулярные исследования гигиенических условий труда с количественным определением вредных производственных факторов; обеспечение достаточной освещенности; оборудование вспомогательных и санитарно-бытовых помещений, включающих: гардеробную, умывальную, душевую, уборную в комплексе (для женщин комнаты личной гигиены), комнаты отдыха и приема пищи; обеспечение спецодеждой и средствами индивидуальной защиты в зависимости от характера выполняемой работы.

4. Использование разработанных прогностических таблиц для комплексной оценки риска заболеваемости работающих, облегчит анализ эффективности проводимых мероприятий по укреплению их здоровья на уровне цехов, здравпунктов, медико-санитарных частей. Об эффективности этих мероприятий можно судить по снижению ЗВУТ ДЧБ, увеличению индекса здоровья, уменьшению удельного веса работающих, относящихся к группе риска.

Литература:

1. *Большаков А.М., Крутко В.Н., Черепов Е.М. и др. Обоснование системы показателей социально-гигиенического мониторинга регионального уровня. // Гиг.и санитария. -1997.- № 2.- С. 29-32.*
2. *Жукова Т.В., Соловьев М.Ю., Калинина М.В. и др. Гигиенические аспекты донозологической диагностики индивидуального здоровья. // Гигиена и санитария.- 2001.- №5.- С. 77-79.*
3. *Капцов В.А., Овакимов В.Г., Денисов Э.И.,Федякина Р.П. Гигиеническая концепция оценки и управления риском профессионального заболевания. //Гиг. и сан. 1993. №8. - С.31-33.*
4. *Кочин И.В. Количественная оценка формирующего влияния системы социально-гигиенических факторов образа жизни на показатели здоровья с использованием математических моделей // Сов. Здорово-охран.- 1991.- № 9.- С. 56-61.*
5. *Лебедева Н.В., Радионова Г.К., Жаворонок Л.Г. Состояние здоровья населения как критерий оценки качества жизни. // Вестник РАМН – 1997.- № 4. – С. 11-14.*



6. Молчанова Л.Ф. Использование метода главных компонент в комплексном социально-гигиеническом исследовании образа жизни и здоровья семей рабочих и служащих. // Сов. Здравоохран. 1990, №8 – С 49-53.
7. Овчаров В.К. Современные Социально- экономические условия и здоровье населения // Вестник РАМН,- 1997.-№7.- С 51-59.
8. Петров Г.А. Влияние образа жизни операторов металлургического производства на состояние их здоровья. // Гиг. И сан. 1999- № 5.- С 29-31.
9. Шишкина Л.И., Ломовцев А.Э., Тихоненко В.В. и др. Опыт проведения исследований В системе социально-гигиенического мониторинга. // Гиг. и сан. №3 1999, С 74-76.
10. *Global Comparative Assessments in the Health Sector. Disease Burden, Expenditures and intervention Packages / Eds. C. I.J. Murray, A.D.Jopez. – Geneva. 1994.*

ОСНОВНЫЕ ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИЗУЧЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ И ПЕРЕНОСЧИКОВ ТРАНСМИССИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Островский А.М.

*Гомельский государственный медицинский университет,
г. Гомель, Республика Беларусь*

Резюме. В статье обобщены результаты многолетних исследований автора по изучению возбудителей и переносчиков трансмиссивных заболеваний в Республике Беларусь. Впервые приводится экологическая характеристика основных групп эпидемиологически и эпизоотически значимых видов кровососущих членистоногих – переносчиков возбудителей трансмиссивных инфекций в зависимости от условий среды обитания и их трофической специализации. Особое внимание уделено анализу заболеваемости трансмиссивными инфекциями, а также динамики численности их основных переносчиков под воздействием антропогенного фактора в различных регионах Республики Беларусь. Проведена сравнительная оценка профилактических мероприятий по борьбе с переносчиками трансмиссивных заболеваний в различных регионах республики.

Ключевые слова: трансмиссивные инфекции, возбудители, переносчики, биология, экология, фенология, сезонная численность, Республика Беларусь.



Summary. *The article summarizes the results of years of research for the study of pathogens and vectors of transmissible diseases in the Republic of Belarus. The first is ecological characteristics of the major groups and epizootics epidemiologically important species of bloodsucking arthropods vectors of pathogens transmissible infections depending on the condition of the habitat and trophic specialization. Special attention is paid to the analysis of the incidence of vector-borne infections and population dynamics of their major carriers under the influence of anthropogenic factors in different regions of the Republic of Belarus. Comparative evaluation of preventive interventions for vector control of vector-borne diseases in various regions of the country.*

Key words: *vector-borne infections, pathogens, vectors, biology, ecology, phenology, seasonal abundance, Republic of Belarus.*

Трансмиссивные инфекции занимают важное место в патологии человека и животных. Эта группа включает более 200 нозологических форм, вызываемых вирусами, бактериями, риккетсиями, простейшими и гельминтами, в передаче которых участвуют кровососущие членистоногие [3]. Однако их изучению не всегда уделяется должного внимания со стороны органов здравоохранения и ветеринарии, что обусловило необходимость исследования.

Цель. Определить основные итоги и перспективы изучения возбудителей и переносчиков трансмиссивных заболеваний в Республике Беларусь.

Материалы и методы. Изучение возбудителей и переносчиков трансмиссивных заболеваний проводилось в течение ряда лет (2006–2015 гг.) в различных регионах Республики Беларусь. Сбор кровососущих двукрылых – переносчиков возбудителей трансмиссивных инфекций осуществлялся по стандартным методикам [20, 25]. Видовую идентификацию эпидемиологически значимых видов иксодовых клещей устанавливали по ранее разработанным схемам [23]. Для изучения морфологических особенностей отдельных видов в лабораторных условиях использовали микроскопы МБС-10 и ШМ-1. За основу исследования были взяты материалы и порядок организации и проведения санитарно-энтомологического надзора за членистоногими, имеющими основное эпидемиологическое значение в Республике Беларусь.

Результаты и обсуждение. Трансмиссивные инфекции являются и продолжают оставаться важной проблемой агропромышленного комплекса Беларуси, требующей безотлагательного решения, в связи с чем ежегодно проводятся многочисленные научные исследования по изучению видового состава, биологии и экологии переносчиков, а также круга их хозяев.

И хотя доля клещей в общей структуре акаро-энтомофауны, имеющей медицинское значение в Республике Беларусь, невелика (рис. 1), однако они занимают важное эпидемиологическое значение, будучи переносчиками таких опасных инфекций, как клещевой энцефалит и болезнь Лайма [18].

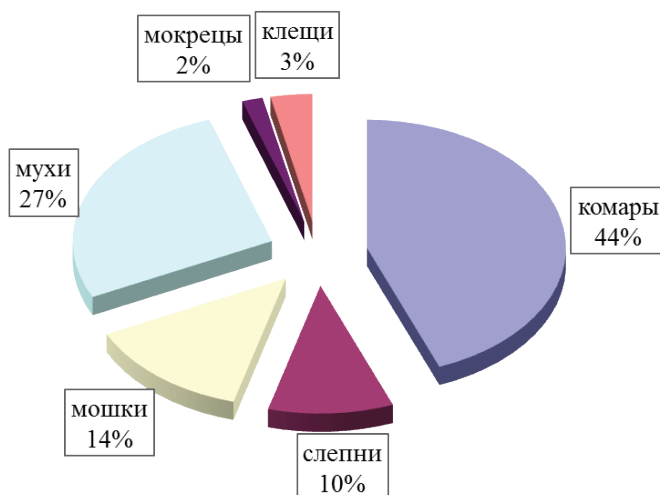


Рис.1.
Структура акаро-энтомофауны, имеющей медицинское значение
в Республике Беларусь

На протяжении последних десятков лет наблюдается значительное увеличение числа заболеваний, передаваемых иксодовыми клещами [3]. Одним из важных следствий потепления климата является большая продолжительность активности клещей в течение сезона. В связи с обильными осадками и продолжительностью теплого периода осенью, осенний пик активности иксодовых клещей удлиняется. Происходящие в настоящее время климатические изменения благоприятствуют существованию очагов клещевых инфекций, а глобальное потепление может сказаться более ранним началом периода нападения клещей на людей и большей их активностью. Заселение новых территорий, ставших в связи с потеплением благоприятными для обитания переносчиков, происходит, прежде всего, благодаря птицам и диким животным, которые служат как резервуарами возбудителей (например, вируса лихорадки Западного Нила), так и носителями зараженных клещей [7].

Повсеместно распространенными и важными в эпидемиологическом и эпизоотическом планах в Беларуси являются 2 вида иксодовых клещей: *Ixodes ricinus* L. и *Dermacentor reticulatus* F. [7, 8]. Среди них лидирует *I. ricinus* L. В результате проведенных исследований также было установлено, что на людей преимущественно нападают клещи рода *Ixodes* Latr. [17].



Проведена оценка среднесезонной численности клещей на стационарных пунктах в различных регионах Республики Беларусь в сезон 2006-2011 гг. В результате многолетних наблюдений сделан вывод о наличии циклических изменений численности клещей рода *Ixodes* Latr. в природных биотопах республики с длительностью циклов 4 года [21]. Установлена роль мышевидных грызунов, как прокормителей преимагинальных стадий иксодовых клещей на территории Национального парка «Нарочанский» [12].

Клещевой энцефалит в Беларуси никогда не был заболеванием, свойственным необжитым районам, и поддержание его возбудителя в имагинальной части жизненного цикла осуществлялось с участием домашних животных, а в ювенильной части комплексами прокормителей личинок и нимф, в основном, из числа диких животных. На протяжении последнего десятка лет наблюдается постоянное увеличение числа людей, в т. ч. детей до 17 лет, с укусами клещей. Практически на всей территории Беларуси установлена циркуляция возбудителей клещевого энцефалита. В целом по республике зарегистрировано 99 неблагоприятных районов по этому заболеванию [2].

Другое связанное с иксодовыми клещами облигатно-трансмиссивное заболевание – клещевой боррелиоз Лайма, или Лайм-боррелиоз, для Беларуси является новым, регистрируется с 1993 года. Новая инфекция стала одним из приоритетных направлений работы центров гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, сохраняющим свою актуальность по сегодняшний день в связи с непрекращающимися вспышками заболевания и выраженной тенденцией к расширению географии активно проявляющихся очагов.

Возбудителем заболевания является *Borrelia burgdorferi sensu lato*, которая относится к семейству спирохет (*Spirochaetaceae*). К настоящему времени описаны 12 видов спирохет рода *Borrelia*, которые экологически связаны с иксодовыми клещами. По крайней мере 3 из них (*B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii*, и *B. afzelii*), вызывают заболевания человека.

В Институте иммунологии Люксембурга под руководством профессора Клода Мюллера в январе 2009 г. было проведено сиквенирование 11 изолятов *B. burgdorferi sensu lato*, полученных в ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии» в 1996 и 2007 гг. Результаты этих исследований показали, что на территории Беларуси циркулируют все три известных геновида боррелий, патогенных для человека, – *B. burgdorferi*, *B. garinii*, *B. afzelii*. Все они, так же, как и вирус западного клещевого энцефалита, тесно связаны с клещом *I. ricinus* L. В отношении с млекопитающими болезнь Лайма, в отличие от клещевого энцефалита, не может быть отнесена к антропонозам, так как вызывает клинически выраженные заболевания собак, но, в целом, является трансмиссивно-клещевым заболеванием человека и животных.



Результаты исследования естественной зараженности клещей боррелиями свидетельствуют о неуклонном росте показателя их бактериформности. В целом по Беларуси зарегистрировано 120 неблагополучных районов по Лайм-боррелиозу, то есть практически на всей территории республики ежегодно являются переносчики этого заболевания.

К примеру, на территории Национального парка «Нарочанский» в результате проведенных исследований ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам» было установлено, что 24,4% собранных имаго иксовых клещей оказались носителями возбудителя болезни Лайма. Иксовые клещи, инфицированные боррелиями, были зарегистрированы в черноольшаниках (ИБ-30%), сосняках (ИБ-33,3%) и на лугу разнотравном (ИБ-50,0%) [1].

Высказано предположение о возможном участии оленьей кровососки *Leroptena cervi* L. в циркуляции возбудителя болезни Лайма в природных очагах Беларуси и передаче спирохет животным и человеку [16, 24].

Совокупность летающих кровососов, включающая самок комаров, москитов, мокрецов, мошек, самцов и самок слепней и др., получила название «гну́с». Летающие кровососы как эктопаразиты имеют большое значение. В местах своего распространения они сильно беспокоят людей, домашних и диких животных. Многие из них – переносчики возбудителей опасных болезней (малярии, энцефалита и т.д.). Этим они причиняют значительный экономический ущерб народному хозяйству республики, вызывая снижение производительности труда рабочих и продуктивности животных [4, 5].

Нами изучены особенности экологии и фенологии основных компонентов «гну́са» в различных регионах Республики Беларусь [5, 13, 14, 15].

В результате проведенной ревизии видового состава комплекса «*Anopheles maculipennis*» на территории Беларуси выявлены местообитания 4 видов малярийных комаров: *An. messeae* Fall., *An. maculipennis* Mg., *An. claviger* Mg. и *An. atroparvus* Van Thiel. Из них наиболее многочисленны и широко распространены *An. messeae* Fall. и *An. maculipennis* Mg. В целом малярийные комары комплекса «*Anopheles maculipennis*» являются многочисленными на урбанизированных территориях. Выплод личинок отмечается в равном проценте случаев в биотопах естественного и искусственного происхождения. Причем места выплода приурочены в основном к населенным пунктам, что свидетельствует в пользу того, что они являются полициклическими синантропными видами с широкой экологической пластичностью [6].

Комары комплекса «*Culex ripiens*» природных и антропогенно трансформированных экосистем Беларуси представлены *C. ripiens* L. (формы *ripiens* L. и *molestus* Forsk.) и *C. torrentium* Mart. В больших городах они стали практически единственными компонентами «гну́са», их нападения беспокоят людей и вызывают многочисленные жалобы. Специфические места выплода и развитие ре-



зистентности к применяемым инсектицидам чрезвычайно затрудняют борьбу с данной группой кровососов, а проводимые мероприятия, несмотря на большой объем, зачастую не достигают желаемой цели [9, 22].

Результаты выявления антигена вируса Западного Нила в кровососущих комарах и мошках методом ИФА за 2010-2011 гг. показали, что энтомологическая ситуация по кровососущим комарам и мошкам в Беларуси характеризовалась наличием потенциальных переносчиков вируса. Положительные находки были выявлялись во всех областях и г. Минске [10].

Малярия была и остается одной из важнейших медико-социальных проблем здравоохранения. На протяжении последних лет в Беларуси регистрируются лишь завозные случаи данного заболевания, однако маляриогенная ситуация в нашей республике характеризуется наличием специфических переносчиков данной инфекции, в связи с чем возможно формирование местных очагов малярии в сезон эффективной заражаемости малярийных комаров. Роль температурного фактора окружающей среды обусловлено его влиянием как на период эффективной заражаемости самок малярийных комаров, так и на увеличение продолжительности сезона передачи малярии человеку. По расчетным данным эпидемически опасными были самки малярийных комаров, проделавшие 3-5 гонотрофических цикла [11].

В сезон наблюдений с 2007 по 2011 гг. на территории г. Минска и шести областей Беларуси периодически регистрировались 8 наиболее значимых в эпидемиологическом отношении видов кровососущих слепней из четырех родов: *Tabanus L.*, *Chrysops Mg.*, *Hybomitra End.* и *Haematopota Mg.*

Можно сказать, что в целом энтомологическая ситуация по «гнусу» в Республике Беларусь на протяжении сезона наших исследований характеризовалась: регистрацией большого фаунистического разнообразия кровососущих двукрылых, имеющих медицинское значение (свыше 60 видов и подвидов); увеличением численности кровососущих комаров рода *Culex L.* в Могилевской области и мошек *Simuliidae* в Могилевской, Витебской и Гомельской областях; относительно стабильной средне-сезонной численностью комаров рода *Aedes Mg.*; резким снижением численности малярийных комаров в Могилевской области и в г. Минске, обусловленное активным проведением в этих местностях противозидемических мероприятий; обеднением видового состава и снижением численности некоторых видов кровососущих двукрылых в результате хозяйственной деятельности человека.

Выводы. В заключение следует отметить, что проблема членистоногих, имеющих медицинское значение, продолжает оставаться актуальной для нашей республики. На протяжении ряда лет наблюдается постоянное увеличение количества людей, в т. ч. детей в возрасте до 17 лет, с укусами клещей. К тому же практически на всей территории Республики Беларусь установлена циркуляция возбудителей клещевого энцефалита и Лайм-боррелиоза.



Анализ заболеваемости трансмиссивными инфекциями в динамике показал необходимость осуществления полноценного и тщательного контроля за распространением и численностью членистоногих-переносчиков, что, в свою очередь, позволит своевременно принимать меры по предупреждению появления и формирования очагов трансмиссивных инфекций и будет способствовать оздоровлению административной территории и населения в целом. В связи с этим усилия должны быть направлены, прежде всего, на [19]:

1) снижение вредного воздействия членистоногих, имеющих медицинское значение, на здоровье населения;

2) энтомологический надзор в областях и г. Минске осуществлять в соответствии с республиканскими нормативно-правовыми документами;

3) в полном объеме выполнять план доставки акаро-энтомофауны;

4) проведение мониторинга за современным состоянием и динамикой численности акаро-энтомофауны в условиях постоянно возрастающего пресса антропогенной нагрузки;

5) своевременное проведение акарицидных обработок в зонах высокого риска нападения иксодовых клещей на людей;

6) обеспечить проведение санитарно-просветительной работы, включающей в себя предупреждение об опасности клещевых инфекций, разъяснение особенностей биологии клещей-переносчиков, путей передачи возбудителей, правил поведения на территориях природных очагов «клещевых» инфекций, возможностей специфической и неспецифической профилактики.

Клещевой энцефалит является одним из приоритетных направлений работы центров гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, сохраняющим свою актуальность по сегодняшний день в связи с непрекращающимися вспышками заболевания и выраженной тенденцией к расширению географии активно проявляющихся очагов.

Таким образом, в основе эпидемиологического надзора, диагностики и профилактики трансмиссивных инфекций должен быть положен комплексный подход, включающий мониторинг паразитарных систем, слежение за эпидемическим процессом, оптимизацию мер профилактики и прогнозирование тенденций изменений активности природных очагов. В свою очередь энтомологический надзор должен осуществляться в соответствии с республиканскими нормативно-правовыми документами. Успешность профилактических мероприятий в отношении трансмиссивных инфекций зависит, прежде всего, от того, насколько они адаптированы к эпидемиологическим параметрам очаговой территории и учитывают степень риска заражения населения.



Литература:

1. *Островский, А.М. Актуальные вопросы изучения лайм-боррелиоза в Беларуси / А.М. Островский // Актуальные вопросы профилактической медицины и обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения: сборник тезисов II Республиканской научно-практической конференции, Казань, 15 марта 2016 г. / ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет»; под общ. ред. А.А. Имамова. – Казань: КГМУ, 2016. – С. 125-126.*
2. *Островский, А.М. Актуальные вопросы изучения центрально-европейского клещевого энцефалита в Беларуси / А.М. Островский // Актуальные вопросы профилактической медицины и обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения: сборник тезисов II Республиканской научно-практической конференции, Казань, 15 марта 2016 г. / ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет»; под общ. ред. А.А. Имамова. – Казань: КГМУ, 2016. – С. 126-127.*
3. *Островский, А.М. Анализ заболеваемости трансмиссивными инфекциями в Республике Беларусь за 2007-2011 гг. / А.М. Островский // Актуальные вопросы медицинской науки: сборник научных работ студентов и молодых ученых Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной памяти академика М.И. Перельмана, Ярославль, 24-25 апреля 2014 г. – Ярославль: ООО «Издательско-полиграфический комплекс «Индиго», 2014. – С. 68.*
4. *Островский, А.М. Динамика численности личиночной фазы развития основных компонентов гнуса в различных регионах Республики Беларусь / А.М. Островский // Тобольск научный – 2013: Материалы X Всероссийской научно-практической конференции, Тобольск, 25-26 октября 2013 г. / Тобольская комплексная научная станция УрО РАН; редкол.: И.А. Ломакин [и др.]. – Тобольск: Тобольская типография филиал ОАО «Тюменский издательский дом», 2013. – С. 149-151.*
5. *Островский, А.М. Изменение видового состава и численности кровососущих двукрылых (Insecta, Diptera) под воздействием антропогенного фактора в различных регионах Республики Беларусь / А.М. Островский // Международный молодежный форум «Интеграция Азиатского научного пространства»: Материалы международного молодежного форума, Барнаул, 11-14 ноября 2013 г. / ФГБОУ ВПО «АлтГУ»; редкол.: А.В. Ваганов (отв. ред.) [и др.]. – Барнаул: АЗБУ-КА, 2013. – С. 15-29.*



6. Островский, А.М. К вопросу о видовом составе и заселенности личинками малярийных комаров комплекса «*Anopheles maculipennis*» (Diptera, Culicidae) водных экосистем Беларуси / А.М. Островский // Актуальные вопросы рыбного хозяйства и аквакультуры бассейнов южных морей России: материалы Международной научной конференции, Ростов-на-Дону, 1-3 октября 2014 г. / Южный научный центр РАН, Донской государственный технический университет; редкол.: Г.Г. Матишов (гл. ред.) [и др.]. – Ростов-на-Дону: Изд-во ЮНЦ РАН, 2014. – С. 71-76.
7. Островский, А.М. К вопросу об экологии эпидемиологически и эпизоотически значимых видов иксодовых клещей (Parasitiformes, Ixodidae) на юго-востоке Беларуси / А.М. Островский // Паразитарные системы и паразитоценозы животных: материалы V научно-практической конференции Международной ассоциации паразитоценологов, Витебск, 24-27 мая 2016 г. / УО «Витебская ордена «Знак Почета» гос. академия ветеринарной медицины»; редкол.: А.И. Ятусевич (гл. ред.) [и др.]. – Витебск: ВГАВМ, 2016. – С. 126-129.
8. Островский, А.М. К изучению паразитиформных клещей (Acari, Parasitiformes) Беларуси / А.М. Островский // Социальная экология как основа экологизации общества: сборник материалов молодежного научного семинара, посвященного 65-летию Кузбасского государственного технического университета им. Т.Ф. Горбачева, Кемерово, 8-9 декабря 2014 г. [Электронный ресурс] / ФГБОУ ВПО «Кузбас. гос. техн. ун-т им. Т. Ф. Горбачева»; редкол.: Т.В. Галанина, М.И. Баумгартэн. – Кемерово: КузГТУ, 2014. – Режим доступа: http://science.kuzstu.ru/wp-content/Events/Conference/Other/2014/eko/SE_2014/pages/Articles/Ostrovskiy.pdf.
9. Островский, А.М. Комары комплекса «*Culex pipiens*» (Diptera, Culicidae) природных и антропогенно трансформированных экосистем Беларуси / А.М. Островский // Механизмы устойчивости и адаптации биологических систем к природным и техногенным факторам: сб. материалов Всероссийской научной конференции, Киров, 22-25 апреля 2015 г. / ГБОУ ВПО «Вятский государственный гуманитарный университет»; редкол.: Т.Я. Ашихмина [и др.]. – Киров: изд-во ООО «ВЕСИ», 2015. – С. 227-230.
10. Островский, А.М. Кровососущие комары и мошки – переносчики вируса лихорадки Западного Нила в Беларуси / А.М. Островский // Материалы IV международной конференции «Инновационные разработки молодых ученых – развитию агропромышленного комплекса»: Сборник научных трудов, Ставрополь, 18-19 сентября 2015 г. / Федеральное агентство научных организаций, ФГБНУ «Всероссийский



- научно-исследовательский институт овцеводства и козоводства»; редкол.: М.И. Селионова (отв. ред.) [и др.]. – Ставрополь: Бюро новостей, 2015. – Т. 1. – Вып. 8. – С. 671-675.
11. Островский, А.М. Маляриогенная ситуация в Беларуси / А.М. Островский // *Материалы V международной (XII итоговой) научно-практической конференции молодых ученых, посвященной 70-летию ЮУГМУ, Челябинск, 2 октября 2014 г. / ГБОУ ВПО ЮУГМУ Минздрава России; редкол.: Л.Ф. Телешева [и др.]. – Челябинск: Изд-во ЮГМУ, 2014. – С. 110-113.*
 12. Островский, А.М. Мышевидные грызуны – прокормители преимагинальных стадий иксодовых клещей на территории Национального парка «Нарочанский» / А.М. Островский // *Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье: Тезисы XVIII Международной медико-биологической конференции молодых исследователей, посвященной двадцатилетию медицинского факультета СПбГУ, Санкт-Петербург, 18 апреля 2015 г. – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2015. – С. 399-400.*
 13. Островский, А.М. Особенности экологии и фенологии кровососущих комаров подсемейства *Culicinae* (Diptera, *Culicidae*) в различных регионах Республики Беларусь / А.М. Островский // *Развитие регионов в XXI веке: Материалы I Международной научной конференции: в 2 ч. Часть I, Владикавказ, 31 октября – 2 ноября 2013 г. / Сев.-Осет. гос. ун-т им. К.Л. Хетагурова; под общ. ред. проф. В.Г. Созанова. – Владикавказ: ИПЦ СОГУ, 2013. – С. 355-361.*
 14. Островский, А.М. Особенности экологии и фенологии кровососущих комаров подсемейства *Anophelinae* (Diptera, *Culicidae*) в различных регионах Республики Беларусь / А.М. Островский // *Развитие регионов в XXI веке: Материалы I Международной научной конференции: в 2 ч. Часть I, Владикавказ, 31 октября – 2 ноября 2013 г. / Сев.-Осет. гос. ун-т им. К.Л. Хетагурова; под общ. ред. проф. В.Г. Созанова. – Владикавказ: ИПЦ СОГУ, 2013. – С. 368-373.*
 15. Островский, А.М. Особенности экологии и фенологии кровососущих мошек (Diptera, *Simuliidae*) в различных регионах Республики Беларусь / А.М. Островский // *Развитие регионов в XXI веке: Материалы I Международной научной конференции: в 2 ч. Часть I, Владикавказ, 31 октября – 2 ноября 2013 г. / Сев.-Осет. гос. ун-т им. К.Л. Хетагурова; под общ. ред. проф. В.Г. Созанова. – Владикавказ: ИПЦ СОГУ, 2013. – С. 362-367.*



16. Островский, А.М. Оценка роли *Lipoptena cervi* (Linnaeus, 1758) в трансмиссии возбудителя лайм-боррелиоза на юго-востоке Беларуси / А.М. Островский // Паразитарные системы и паразитоценозы животных: материалы V научно-практической конференции Международной ассоциации паразитоценологов, Витебск, 24-27 мая 2016 г. / УО «Витебская ордена «Знак Почета» гос. академия ветеринарной медицины»; редкол.: А.И. Ятусевич (гл. ред.) [и др.]. – Витебск: ВГАВМ, 2016. – С. 129-131.
17. Островский, А.М. Показатели численности и видовое соотношение клещей при рекогносцировочных обследованиях лесных массивов Республики Беларусь / А.М. Островский // Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии: Материалы VII-й Международной студенческой научной конференции, Ульяновск, 14–15 мая 2014 г. в 2 томах / Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина; редкол.: Д.А. Васильев [и др.]. – Ульяновск: Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина, 2014. – Т. 2. – С. 26-28.
18. Островский, А.М. Проблема клещевых трансмиссивных инфекций в агропромышленном комплексе Беларуси / А.М. Островский // Актуальные проблемы сохранения и развития биологических ресурсов: сборник материалов Международной научно-практической конференции, Екатеринбург, 26-27 февраля 2015 г. / ФГБОУ ВО «Уральский государственный аграрный университет»; под ред. д-ра биол. наук, проф. И.М. Донника. – Екатеринбург: УрГАУ, 2015. – С. 272-276.
19. Островский, А.М. Профилактика клещевых трансмиссивных инфекций в агропромышленном комплексе Беларуси / А.М. Островский // Актуальные вопросы профилактической медицины и обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения: сборник тезисов II Республиканской научно-практической конференции, Казань, 15 марта 2016 г. / ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет»; под общ. ред. А.А. Имамова. – Казань: КГМУ, 2016. – С. 124-125.
20. Островский, А.М. Сбор и изучение эпидемиологически значимых видов кровососущих слепней (Diptera, Tabanidae) Беларуси / А.М. Островский // Закономерности развития региональных агропродовольственных систем: Материалы Всероссийской школы молодых ученых, Саратов, 11 ноября 2015 г. / ФГБУН Институт аграрных проблем РАН; редкол.: А.А. Анфиногентова [и др.]. – Саратов: Изд-во ИАгП РАН, 2015. – С. 114-117.



21. *Островский, А.М. Сезонные показатели численности иксодовых клещей в Республике Беларусь / А.М. Островский // Актуальные проблемы инфекционной патологии и биотехнологии: Материалы VII-й Международной студенческой научной конференции, Ульяновск, 14–15 мая 2014 г. в 2 томах / Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина; редкол.: Д.А. Васильев [и др.]. – Ульяновск: Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина, 2014. – Т. 2. – С. 28-31.*
22. *Островский, А.М. Сравнительная оценка мероприятий по борьбе с переносчиками трансмиссивных заболеваний в различных регионах Республики Беларусь / А.М. Островский // Материалы III международной конференции «Инновационные разработки молодых ученых – развитию агропромышленного комплекса»: Сборник научных трудов, Ставрополь, 19 сентября 2014 г. / Федеральное агентство научных организаций, ГНУ Ставропольский НИИ животноводства и кормопроизводства Россельхозакадемии (ВНИИОК); редкол.: М.И. Селионова (отв. ред.) [и др.]. – Ставрополь: ГНУ СНИИЖК, 2014. – Т. 2. – Вып. 7. – С. 452-455.*
23. *Островский, А.М. Схемы для определения эпидемиологически значимых видов иксодовых клещей (Parasitiformes, Ixodidae) Беларуси / А.М. Островский // Сборник материалов молодежного научного семинара «Эколог – профессия будущего», Кемерово, 18-20 ноября 2014 г. [Электронный ресурс] / ФГБОУ ВПО «Кузбас. гос. техн. ун-т им. Т.Ф. Горбачева»; редкол.: Т.В. Галанина, М.И. Баумгартэн. – Кемерово: КузГТУ, 2014. – Режим доступа: http://science.kuzstu.ru/wp-content/Events/Conference/Other/2014/eko/eko_2014/pages/Articles/Ostrovskiy.pdf.*
24. *Островский, А.М. Эпидемиологическое значение и особенности биологии оленьей кровососки *Lepoptena cervi* (Linnaeus, 1758) на территории Беларуси / А.М. Островский // Фундаментальные и прикладные аспекты современной инфектологии: сборник научных статей участников Всероссийской научно-практической конференции с международным участием: в 2-х томах. Том 2, Уфа, 12-14 апреля 2016 г. / ГБОУ ВПО «Башкирский гос. мед. ун-т» [и др.]; редкол.: Г.М. Хасанова (отв. ред.) [и др.]. – Уфа: РИО ИЦИПТ, 2016. – С. 99-103.*
25. *Ostrovsky, A. Collection methodology and quantitative account of the mosquitoes / A. Ostrovsky // Youth and Progress of Biology: Book of Abstracts of XI International Scientific Conference for Students and PhD Students (Lviv, 20–23 April 2015). – Lviv, 2015. – P. 317.*



ВЫЯВЛЕНИЕ ЭНТЕРОТОКСИГЕННЫХ ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI* МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ

Тяпша Ю.И., Ломако Ю.В., Дубаневич О.В.,
Соловьёва А.В., Левкович А.Д.

Институт экспериментальной ветеринарии имени С.Н. Вышелецкого,
г. Минск, Республика Беларусь

Резюме. Подавляющее количество случаев факторных болезней молодняка сельскохозяйственных животных связано с *Escherichia coli* (*E.coli*) [9]. Среди бактериальных возбудителей энтеритов у молодняка крупного рогатого скота в ветеринарных диагностических лабораториях выделяется четыре наиболее распространенных: *Escherichia coli* – 50,44%, *Proteus mirabilis* – 15,04%, *Klebsiella pneumoniae* – 10,62%, *Salmonella* spp. – 7,08% случаев.

Согласно ветеринарной отчетности за последние годы, колибактериоз наблюдался в 35-40% заболеваний. При этом летальность колебалась в пределах 20-45%, то есть ежегодно погибало более трети заболевших телят [2,5,7]. Ежегодно ветеринарными диагностическими учреждениями Республики Беларусь проводится до 30 тысяч лабораторных исследований на эшерихиоз, около 35% исследований приходится на долю молодняка крупного рогатого скота [4].

Установлено, что в развитии массовых кишечных инфекций у молодняка животных в основном участвуют токсикогенные *E.coli*, продуцирующие термолабильные (LT), термостабильные, шигаподобные и другие токсины [10].

Термолабильный и термостабильный энтеротоксины ответственны за повышенную экскрецию жидкости в просвет кишечника [3]. Эндотоксины представляют собой основную часть липополисахаридного комплекса наружной мембраны бактерий и освобождаются только после разрушения бактериальных клеток, вызывая нарушения различных физиологических функций макроорганизма [6]. Адгезины энтеропатогенных и энтерогемморагических штаммов обеспечивают плотное прикрепление бактерий к эпителию, вызывая при этом характерное сглаживание микроворсинок. Наиболее известными специфическими адгезивными антигенами являются: A20 (F17), K99 (F5), K88 (F4), F41 [1, 8].

В настоящее время с помощью методов полимеразной цепной реакции (ПЦР) возможно обнаружить у бактерий как гены, отвечающие за выработку токсинов, так и непосредственно продуцируемые ими токсины и таким образом выявлять токсикогенные штаммы *E.coli*.



Ключевые слова: Эшерихия коли, крупный рогатый скот, термолабильный энтеротоксин, полимеразная цепная реакция

Key words: *escherichia coli*, cattle, heat-labile enterotoxin, polymerase chain reaction.

Цель. Разработать метод диагностики гена термолабильного энтеротоксина *E. coli* в биологических пробах, так как в Республике Беларусь в настоящее время отсутствуют молекулярно-генетические методы детекции данного токсина.

Материалы и методы. Материалы: на наличие гена LT энтеротоксина были исследованы изоляты *E. coli* принадлежащие РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского».

Применяли: 10x PCR буфер для Tag ДНК-полимеразы, термостабильную ДНК-полимеразу (Taq-полимераза, 5 ед/мкл) (ГНУ «Институт биоорганической химии НАНБ»); смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов (25 мМ), маркер молекулярного веса «GeneRuler 50 bp Ladder» (Fermentas, Литва); 10x TE-буфер pH 8,0; бромистый этидий (SIGMA, США); агарозу (helicon, Россия); раствор MgCl₂ (50 мМ); праймеры (F_elt-408, R_elt-408, F_elt-194, R_elt-194, зонд Z_elt-194); буфер для нанесения проб; стерильную деионизированную воду.

Оборудование:

- ламинар;
- микротермостат «BIOSAN-CH100» (Латвия);
- амплификатор «С 1000 Thermal Cycler», BIO-RAD (США);
- амплификатор «CFX 96 Thermal Cycler», BIO-RAD (США);
- персональный компьютер (Windows XP, 2 GHz, 512 Mb RAM, 80 Gb HDD, CD-RW, USB 2.0, мышь);
- Gel Doc XR, BIO-RAD (США);
- микроцентрифуга высокоскоростная (14 000 об/мин) Jouan (Франция);
- комплект автоматических пипеток «SOCOREX» (Швейцария), вместимостью 0,1-2 мкл, 0,5-10 мкл, 20-200 мкл, 100-1000 мкл, 1-10 мл и наконечники к ним (с фильтрами и без фильтров);
- пробирки для микропроб типа «эппендорф» вместимостью 0,5 и 1,5мл;
- вортекс «BIOSAN» (Латвия);
- пробирки для ПЦР вместимостью 0,2 мл для прибора «С 1000 Thermal Cycler»;
- холодильник «Атлант МХМ 1841» (ЗАО «Атлант», РБ);
- система для электрофореза «Consort», (Бельгия);
- термостат SEL LAB (Германия);
- весы RADWAG AS 220/X (Польша);
- система подготовки чистой воды «Crystal В», ADRONA (Латвия);
- паровой автоклав;



- иономер (рН - метр);
- кюветы эмалированные 25x15 см;
- ножницы остроконечные;
- пинцеты хирургические и анатомические;
- шприцы типа «Рекорд» ГОСТ 22967-97 – 1 мл и 5 мл;
- иглы инъекционные ГОСТ 25377-87;
- отдельный халат и одноразовые перчатки из латекса;
- комплект средств для обработки рабочего места.

Методы исследований: анализ ДНК бактериальных изолятов на наличие энтеротоксигенных штаммов *E. coli*, содержащих ген термостабильного токсина проводили методом ПЦР с электрофоретической детекцией и с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».

В основе метода лежит амплификация специфического участка гена LT энтеротоксигенных штаммов *E. coli*, за счет многократного повторения циклов денатурации ДНК в исследуемой пробе, отжига специфических олигонуклеотидных затравок (праймеров-содержащих последовательности, комплементарные с целевым участком) и синтеза комплементарных цепей ДНК с помощью фермента Taq-полимеразы.

В результате проведения определенного (N) количества циклов амплификации концентрация синтезируемого фрагмента в исследуемой пробе увеличивается в 2N раз (например, в миллион раз после 20 циклов), что позволяет учитывать результаты анализа в агарозном геле и с помощью кривой флуоресценции.

Подбор праймеров. Поиск новых синтетических олигонуклеотидных праймеров осуществляли по базам данных GeneBank – Национального института здоровья США, EMBL – Европейской молекулярно-биологической лаборатории, DDBJ – Национального института генетики Японии и PDB – базы данных белковых последовательностей при помощи поисковой системы Entrez Национального центра биотехнологической информации США. Полученные последовательности нескольких пар праймеров дополнительно тестировали на специфичность с помощью моделирования ПЦР в программе Vector NTI и BLAST on-line (www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast). Выбранные олигонуклеотиды были синтезированы в ОДО «Праймтех» (г. Минск).

Выделение ДНК проводили по протоколу «РНК-ВТК».

Амплификация. Проведение ПЦР осуществляли, используя программу амплификации: 1. 94°C 3 мин, 2. 94°C 30 сек; 3. 57°C 45 сек; 4. 72°C 30 сек п.п. 2-4 повтор 40 циклов, 5. 72°C 6 мин, 6. 10°C хранение.

Использовали оптимальные концентрации компонентов реакционной смеси: ПЦР-буфер АМ - 5,0 мкл; dNTPs 25 mM – 1,0 мкл; MgCl₂ 50 mM – 1 мкл; F и R по 10 pm; taq-полимераза 5 ЕД - 1,0 мкл; буфер для нанесения – 10,0 мкл; H₂O – до 46 мкл; ДНК матрицы – 4 мкл.



Результаты ПЦР регистрировали путем проведения электрофореза в 1,5% агарозном геле в стандартном трис-ЭДТА буфере (рН 8,0) путем внесения 10 мкл продукта ПЦР в лунки агарозного геля. Электрофорез проводили при напряжении 60 В – 80 минут. Результаты электрофореза учитывали на приборе Gel Doc XR и с помощью программы ImageLab Software. Результат ПЦР считали положительным, если продукт ПЦР соответствовал искомому фрагменту выражаемый в количестве нуклеотидных пар в соответствии с маркером молекулярного веса.

Аmplификация в режиме «реального времени». Проведение ПЦР осуществляли, используя программу амплификации: прогревание смеси - 94°C - 3 мин. – 1 цикл; денатурация - 94°C - 30 сек. -40 циклов; отжиг/удлинение - 56°C - 30 сек. – 40 циклов, хранение - 10°C.

Использовали оптимальные концентрации компонентов реакционной смеси: - нижняя смесь: ПЦР-буфер АМ – 5,0 мкл; dNTPs 25 mM – 1,0 мкл; MgCl₂ 50 mM – 1 мкл; F праймер – 20 pm; R– 20 pm; H₂O до 35 мкл.

- верхняя смесь: таq-полимераза 5 ЕД – 3,0 мкл; зонд –10 pm; ДНК матрицы – 4 мкл; H₂O – до 15мкл.

Снятие показаний флуоресценции производили на стадии отжига/удлинения при 56°C на канале FAM. Учет и интерпретацию результатов проводили на приборах «CFX 96 Thermal Cycler» (Bio-Rad, США). Результаты интерпретировали на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции с установленной на соответствующем уровне пороговой линией (что соответствует наличию (или отсутствию) значения порогового цикла C_t в соответствующей графе в таблице результатов). Результат считали достоверным только в случае прохождения положительных и отрицательных контролей амплификации. Образец считали положительным на наличие E. coli, содержащей ген термолабильного токсина, если значение C_t на канале FAM было не менее 37. Образец считали отрицательным, если по каналу FAM для него значение C_t отсутствовало.

Результаты и обсуждение. Сконструировано филогенетическое дерево по гену eltA и 29 геномам E.coli содержащих термолабильный токсин.

Для построения дендрограммы сравнивали эти нуклеотидные последовательности генов eltA с помощью программы AlignX.

Различия нуклеотидных последовательностей генов были приемлемы для последующего анализа при котором были определены консервативные участки к которым и подбирались праймеры с рейтингом не менее 153.

В результате подобраны пары праймеров комплементарные консервативным участкам гена термолабильного токсина E.coli.

Описание гена мишени термолабильного токсина E.coli: Название - ген eltA, продукт – LTA, функция - термолабильный токсин способствует повышению

ной экскреции жидкости в просвет кишечника. Основные параметры сконструированных праймеров по гену *eltA*, штамму №13962.1 приведены в таблице 1.

Таблица 1.

Основные параметры сконструированных праймеров по гену *eltA*, штамму №13962.1

Праймер	Метка, 5'	Метка, 3'	Tm, °C	GC, %	Ампликон, п.о.	Позиция праймеров
F_elt-408	-	-	60	58	408	349298-349318
R_elt-408	-	-	60	50		349687-349706
F_elt-194	-	-	60	50	194	349220-349239
R_elt-194	-	-	58	53		349394349414
зонд Z_elt-194	FAM	BHQ-1	70	55	-	349360-349382

Наиболее оптимальный вариант ПЦР тест-системы был получен с парой праймеров F_elt-408 и R_elt-408 и протоколе амплификации: 1 – 94°C 3 мин, 2 – 94°C 30 сек, 3 – 57°C 45 сек, 4 – 72°C 30 сек, п.п.2-4 повтор 40 циклов, 6 – 72°C 6 мин, 7 – 10°C хранение (рисунок 1).

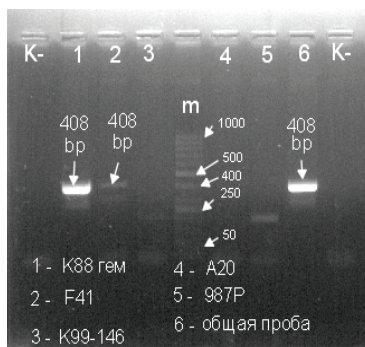


Рис.1.

Результаты ПЦР по выявлению *E. coli*, содержащей ген термолabileного токсина, форзная детекция

m – маркер молекулярного веса

K- – отрицательный контроль

2-6 – исследуемые изоляты *E. coli*

1 – изолят *E. coli* содержащий термолabileный эндотоксин, что подтверждено в ИФА с использованием моноклональных антител (НИИЭВ г. Минск)



Стрелками указан специфический фрагмент ДНК E.coli, содержащий участок гена LT токсина размером 408 bp.

Наиболее интенсивно положительно среагировала проба №1 – гемолитический изолят E.coli (K88), проба №2 среагировала положительно, но менее интенсивно, что свидетельствует о том, что не вся культура содержит ген LT.

В пробах № 3,4,5 гена LT не обнаружено.

При ПЦР в «реальном времени» с использованием зонда Z_elt-194 и праймеров F_elt-194 и R_elt-194 наработка специфического продукта наблюдалась с 13 цикла амплификации. На рисунке 2 представлен анализ по подбору оптимальной температуры отжига для выявления энтеротоксигенных штаммов E.coli, содержащих ген LT токсина. Установлено, что ПЦР тест-система работает в широком диапазоне температур, оптимальная температура отжига - 56°C.

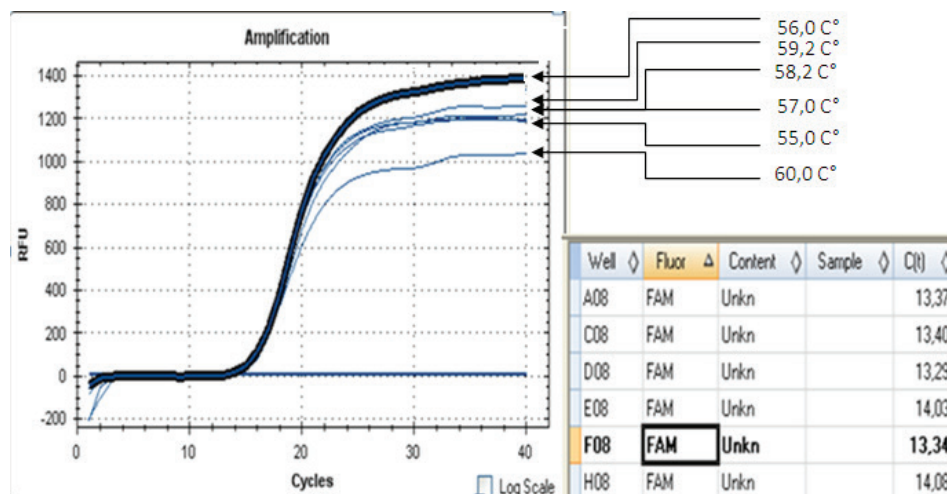


Рис.2.
Результаты ПЦР по выявлению E. coli, содержащего ген термолабильного токсина, детекция в Real time

Наиболее оптимальный вариант Real time ПЦР тест-системы был получен с парой праймеров F_elt-194 и R_elt-194, зонд Z_elt-194 и протоколе амплификации: 1 – 94°C 3 мин, 2 – 94°C 30 сек, 3 – 56°C 30 сек, 4 – п.п.2-3 повтор 40 циклов, 5 – 10°C хранение.

Определение чувствительности Real time ПЦР тест-системы. Для определения чувствительности ПЦР тест-системы мы сделали десятикратные разведения суспензии E.coli. Разведения готовили из 1-миллиардной взвеси. В эксперименте выделение ДНК проводили из суспензий с концентрацией в 1000



мкл – 10^9 , 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2 клеток. Учитывая, что элюирование ДНК проводили в 100 мкл и для исследования в ПЦР использовали 4 мкл образца каждого разведения, то конечная концентрация микробных клеток в эксперименте была эквивалентна 10^8 , 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2 , 10 клеткам.

На рисунке 3 видно, что минимальная концентрация бактериальных клеток в которой обнаруживается ген термолabileного токсина E.coli составляет 10 клеток в пробе.

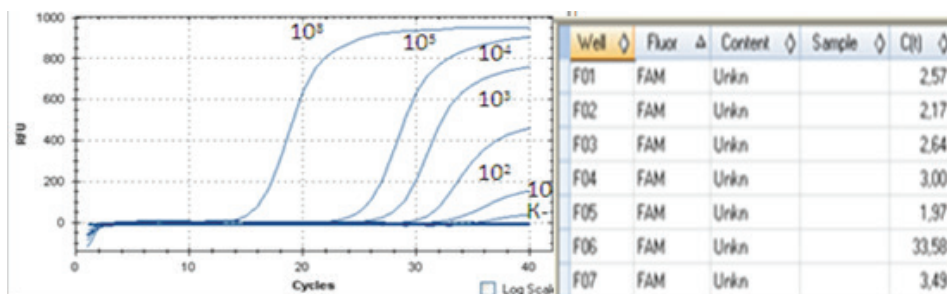


Рис.3.
Результаты ПЦР по выявлению E. coli, содержащей ген термолabileного токсина, детекция в режиме «реального времени»

Выводы. Экспериментальные образцы ПЦР тест-систем на основе уникальных праймеров Z_elt-194, R_elt-194, зонда Z_elt-194, F_elt-408, R_elt-408 при режиме детекции флуоресцентным методом и в «реальном времени» позволяют детектировать наличие в биологических образцах наличие энтеротоксигенных штаммов E.coli, содержащих ген термолabileного токсина.

Литература:

1. Андросик, Н.Н. Серотипизация циркулирующих культур E. coli сельскохозяйственных животных – основа конструирования средств специфической профилактики колибактериоза молодняка / Н.Н. Андросик, Ю.В. Ломако, С.В. Полоз, В.К. Карнович // Ученые записки. – 2004. – Т. 40. – № 1 – С. 167–168.
2. Барашков, А.Н. Анализ данных ветеринарной отчетности по эшерихиозу телят в Республике Беларусь / А.Н. Барашков, В.В. Максимович, Я.П. Яромчик, П.А. Красочко // Ученые записки. – 2007. – Т. 43. – № 2 – С. 81–83.



3. Волкова, М.В. Энтеротоксигенные штаммы *E.coli* – основной фактор вирулентности в патогенезе колиинфекции молодняка / М.В. Волкова, Д.С. Волков // Вестник Саратовского государственного аграрного университета им. Н.И. Вавилова. – 2008. – № 4 – С. 17–19.
4. Максимович, В.В. Этиологическая структура эшерихиоза крупного рогатого скота в Республике Беларусь / В. В. Максимович [и др.] // Исследования молодых ученых в решении проблем животноводства: материалы VI Международной научно-практической конференции, Витебск, 24–25 мая 2007 г. / Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины». – Витебск, 2008. – С. 221–222.
5. Медведев, А.П. Анализ данных ветеринарной отчетности по эшерихиозу телят в Республике Беларусь / А.П. Медведев, А.М. Юдасин // Ученые записки. – 2007. – Т. 43. – № 2 – С. 86–88.
6. Медведев, А.П. Вирулентность и иммуногенность эшерихий / А.П. Медведев, А.М. Юдасин // Ученые записки. – 2010. – Т. 46. – № 2 – С. 153–156.
7. Шахов, А.Г. Этиология факторных инфекций животных и меры их профилактики / А.Г. Шахов // Ветеринарная патология. – 2005. – №3. – С. 22–24.
8. Calf small intestine receptors for K99 fimbriated enterotoxigenic *Escherichia coli*. S. Teneberg, P.T.J. Willemsen, F.K. de-Graffe.a. // FEMS Microbiol. Letters. – 1993. – Vol. 109, № 1. – P. 107–112.
9. Efanova L.I., Manzhurina O.A., Stepanov A.V. Etiologic structure of factor infections of pigs and large horned cattle in farms of Russia. - Vestnik KSAA. - Kursk, 2012 (6). - pp.71-72.
10. Terekhov V.I., Karayev Ya.M., Kogdenko N.V, Kotkova N.V. Antigenic structure and properties of pathogenic strains of *E. coli*, isolated from calves and pigs in Krasnodar region. - Rossiysky veterinarny zhurnal. - Moscow, 2008 (4). - pp. 6-8.



ХРОНИЧЕСКАЯ HCV-ИНФЕКЦИЯ И ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ

Эгамбердиев К.К., Юлдашов Ж.А., Матрасулова Д.М.
*Ургенчский филиал Ташкентской медицинской академии,
г. Ургенч, Республика Узбекистан*

Ключевые слова: инфекция, инсулинорезистентность, гепатит С.

Key words: infection, insulin resistance, hepatitis C.

Вирусный гепатит С продолжает оставаться одной из глобальных проблем современного здравоохранения. По расчетным данным, в мире число инфицированных достигает 500 млн человек. К клиническим особенностям гепатита С в первую очередь следует отнести высокую частоту хронизации (85%), что обеспечивает неуклонное увеличение числа больных хронической инфекцией. Другой особенностью заболевания является длительное субклиническое или малосимптомное его течение при одновременном прогрессировании патоморфологических изменений в ткани печени с исходом в цирроз печени. Вследствие этого нередко гепатит С впервые диагностируется на далеко зашедших стадиях, иногда в дебюте декомпенсации на цирротической стадии заболевания. Эти обстоятельства объясняют пристальное внимание исследователей к механизмам развития инфекционного процесса и, в частности, инициации и прогрессирования фиброза печени при хроническом гепатите С (ХГС), что имеет большое значение для клинической практики. В настоящее время уже установлен ряд факторов, влияющих на прогрессирование заболевания, среди которых выделяют возраст больных (старше 40 лет), длительность инфекции, мужской пол, генотип вируса (генотип 1) и употребление алкоголя [1]. Повышенный интерес представляют характеристики макроорганизма, которые могут оказывать влияние на темпы развития инфекционного процесса, имеют патогенетическое значение в формировании и прогрессии фиброза печени.

В этой связи в последнее время широко обсуждается наличие инсулинорезистентности при хронической HCV-инфекции, которая характеризуется метаболическими нарушениями со снижением реакции инсулинчувствительных тканей на инсулин при его достаточной концентрации, приводящее к хронической компенсаторной гиперинсулинемии. Инсулинорезистентность определяют также как состояние, характеризующееся потребностью в более высокой концентрации инсулина, чем в норме, для реализации его биологических эффектов. Инсулинорезистентность рассматривается как основа такого широко распространенного в популяции патологического состояния, как метаболический синдром, который характеризуется сочетанием ожирения, пограничной



гипергликемии натощак, артериальной гипертензии и дислиппротеидемии. Показано, что именно инсулина-резистентность при метаболическом синдроме имеет существенно более тесную связь с риском развития сердечно-сосудистых заболеваний, чем другие отдельные его компоненты (ожирение, сахарный диабет, артериальная гипертензия, дислиппротеидемия) [2]. При этом данные о встречаемости метаболического синдрома у пациентов с хронической HCV-инфекцией неоднозначны. Имеются сведения о более частом, примерно в 25% случаев, обнаружении метаболического синдрома при ХГС в сравнении с 22% случаев в популяционных исследованиях, проведенных на Среднем Западе США [3].

Очевидно, что сочетание ХГС с инсулинорезистентностью может быть следствием сопутствующего метаболического синдрома. В этих случаях инсулинорезистентность у больных ХГС обусловлена имеющимися у пациента метаболическими нарушениями, как предшествующими, так и сопутствующими инфекции. В первую очередь это касается наличия висцерального (абдоминального) ожирения. Известно, что абдоминальное ожирение имеет прямое отношение к развитию инсулинорезистентности. Так, висцеральная жировая ткань (при абдоминальном ожирении) является активно функционирующим эндокринным и паракринным органом, вырабатывающим гормоны адипоцитокينات и провоспалительные цитокины. Избыток жировой ткани приводит к развитию дисбаланса адипоцитокинов (в частности, увеличению содержания лептина, адипсина, резистина, снижению адипонектина), увеличению синтеза и секреции провоспалительных цитокинов, что приводит к снижению чувствительности периферических тканей к инсулину. Кроме того, известно, что адипоцитокينات воздействуют на процессы фиброгенеза в печени (лептин активирует коллаген синтезирующие клетки печени, адипонектин ингибирует фиброгенез) [4, 5, 6, 7].

Не меньший интерес представляет другой, специфический для гепатита С механизм развития резистентности к инсулину. Убедительно доказана ее непосредственная связь с инфицированием вирусом гепатита С и развитием гепатита – это так называемая вирусная инсулинорезистентность [8, 9, 10, 11, 12]. «Вирусная» инсулинорезистентность обусловлена прямым и опосредованным (через провоспалительные цитокины) действием вируса на инсулиновый каскад. Вирус непосредственно угнетает инсулиновый рецепторный субстрат-1 и –2, провоспалительные цитокины подавляют тирозин киназное фосфорилирование инсулиновых рецепторов и функции генов, кодирующих белки инсулинового каскада [13, 14]. Подтверждением участия вируса в развитии инсулинорезистентности при ХГС служат наблюдения, свидетельствующие о повышении чувствительности к инсулину на фоне успешной противовирусной терапии (у больных с устойчивым ответом на лечение) и сохранении инсулинорезистентности при отсутствии элиминации вируса [15].



Инсулинорезистентность (как вирус индуцированная, так и метаболическая) приводит к развитию гиперинсулинемии, которая является важным аспектом формирования фиброза печени. Гиперинсулинемия стимулирует синтез внеклеточного матрикса звездчатыми клетками, что приводит к прогрессированию процессов фиброгенеза [16]. Эти данные свидетельствуют о важной роли инсулинорезистентности при ХГС как фактора, влияющего на течение патологического процесса. Кроме того, гиперинсулинемия как следствие инсулинорезистентности нарушает метаболизм липидов в гепатоците и, следовательно, способствует формированию стеатоза и стеатогепатита, с повышением риска развития сахарного диабета. Высокая частота развития сахарного диабета 2 типа и стеатоза печени при хронической HCV-инфекции подтверждена крупно-масштабными исследованиями [17, 18, 19]. Важными для понимания роли инфекции являются результаты исследования J. M. Hui и соавт., которые подтвердили развитие инсулинорезистентности у больных ХГС уже на ранних стадиях заболевания (при отсутствии или слабо выраженном фиброзе печени) с одновременным повышением в крови уровня инсулина и С-пептида, что расценивалось авторами как возможное «вирусное» потенцирование сахарного диабета [20].

Стеатоз печени в последние годы стали рассматривать как фактор прогрессирования ХГС. Важно понимать, что при стеатозе печени включаются механизмы формирования фиброза, в развитии которого ключевая роль отводится окислительному стрессу, что открывает возможности для фармакологической коррекции. Известна высокая частота обнаружения стеатоза печени при ХГС (от 30 до 80%), особенно при инфицировании вирусом генотипа 3 [21, 22, 23]. Как и в случае инсулинорезистентности, пути формирования стеатоза печени при ХГС различны: выделяют «метаболический» стеатоз и «вирусный» стеатоз, ассоциированный с генотипом 3 вируса гепатита С [10, 24, 25].

«Вирусная» природа стеатоза подтверждается отчетливой корреляцией между его выраженностью и степенью вирусной нагрузки (при генотипе 3 вируса) и уменьшением жировой дистрофии печени на фоне успешной противовирусной терапии. Таким образом, определение роли различных факторов в прогрессировании ХГС и его исходов является условием разработки перспективных способов фармакологической коррекции, которые могут существенно повысить эффективность современных схем противовирусной терапии.

Цель исследования. Оценить частоту инсулинорезистентности по индексу НОМА-IR у больных ХГС и ее связь с нарушением жирового обмена.

Материалы и методы. В исследование были включены 75 больных ХГС (35 мужчин и 40 женщин) в возрасте от 20 до 55 лет. Средний возраст обследованных составил $36,1 \pm 9,2$ лет.

Диагноз ХГС устанавливался на основании обнаружения в крови маркеров вируса: суммарных антител (HCV-Ab), РНК-HCV, а также по совокуп-



ности клинико-anamнестических, эпидемиологических, биохимических, инструментальных данных согласно классификации хронических гепатитов (Лос-Анджелес, 1994).

У 76% больных гепатит С был впервые выявлен при скрининговом обследовании на маркеры вирусов гепатита, и 24% пациентов были обследованы целенаправленно в связи с наличием каких-либо клинико-лабораторных отклонений (умеренное повышение активности аланинаминотрансферазы (АЛТ), обнаружение гепатомегалии по данным УЗИ, реже – ухудшение самочувствия в виде астеновегетативного и диспепсического синдромов).

Критериями исключения при подборе пациентов для проведения исследования были признаки субкомпенсированного и декомпенсированного цирроза печени (по Child-Pugh, 1973), хронические заболевания печени другой этиологии (в том числе вирусный гепатит В), хронический алкоголизм, сахарный диабет, симптоматическая артериальная гипертензия, тяжелая сопутствующая соматическая патология, а так-же потребление наркотических средств и ВИЧ-инфекция.

Практически у половины пациентов (44,6%) давность гепатита составила более 8 лет, у 27% – от 3 до 8 лет, у 18,9% – до 3 лет, у 9,5% продолжительность заболевания установить не удалось ХГС у 52,4% пациентов был обусловлен 1b генотипом ВГС, у 46% – 3a генотипом. Об активности гепатита судили по биохимическим показателям – активности АЛТ (МЕ/л) и уровню тимоловой пробы (ЕД), отражающим выраженность цитолитического и мезенхимально-воспалительного синдромов. У 20 пациентов была оценена степень фиброза печени по шкале METAWIR по результатам биопсии печени, эластографии печени и Фибромакс-теста.

У всех больных рассчитывали индекс массы тела (ИМТ) методом Кетле ($\text{кг}/\text{м}^2$). Согласно критериям ожирения ВОЗ (1997), распределение пациентов по ИМТ оказалось следующим: у 36 больных ХГС (48%) масса тела была нормальной, у 31 (41,3%) обнаружена избыточная масса тела; у 6 пациентов (8,0%) диагностировано ожирение 1-й степени, у 2 (2,6%) – ожирение 2-й степени.

Наличие абдоминального ожирения устанавливали путем измерения обхвата талии в соответствии с IDF-критерием 2005 года (у мужчин > 94 см, у женщин > 80 см). На этом основании у 33 больных ХГС (44%) диагностировано абдоминальное ожирение. Уровень глюкозы в венозной крови определяли натощак ферментативным калориметрическим методом. Содержание иммунореактивного инсулина в плазме крови определяли натощак методом ИФА с использованием тест-системы DRG Insulin ELISA (США). Для оценки инсулинорезистентности использовали индекс НОМА-IR (D. Matthews, 1985). Показатели $\text{НОМА-IR} \geq 2,7$ свидетельствовал о наличии инсулинорезистентности.

Результаты исследования и обсуждение. Инсулинорезистентность ($\text{НОМА-IR} \geq 2,27$) диагностирована у 27 (36,0%) больных ХГС. Результаты



анализа значений НОМА-IR и частоты выявления инсулинорезистентности в зависимости от возраста пациентов, наличия признаков нарушения жирового обмена представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Характеристики ХГС	НОМА-IR (M ± m)	ИР (%)
Возраст пациентов, лет	2,00 ± 1,21	31,4
≤ 39	2,99 ± 2,25	43,5
> 40	p < 0,05	p > 0,05
ИМТ, кг/м ² ≤ 24,9	1,55 ± 0,65	13,9
> 25	3,02 ± 1,96	56,4
	p < 0,01	p < 0,05
Абдоминальное ожирение	1,77 ± 1,11	23,8
есть	3,00 ± 1,95	51,5
нет	p < 0,01	p < 0,05
Генотип HCV 1 b	2,23 ± 1,94	38,2
3 a	2,34 ± 1,39	31,0
	p > 0,05	p > 0,05
Активность АЛТ (МЕ/л)	1,92 ± 1,18	23,5
≤ 40	2,55 ± 2,30	42,9
≥ 160	p > 0,05	p > 0,05
Тимоловая проба (ЕД)J	2,29 ± 1,79	33,3
	3,62 ± 2,29	75,0
	p = 0,057	p < 0,05
Степень фиброза (шкала METAVIR)	1,90 ± 1,04	23,1
F0–F1 (n = 13)	3,47 ± 3,16	28,6
F2–F4 (n = 7)	p > 0,05	p > 0,05

Следует отметить, что у 52% обследованных пациентов было повышение ИМТ разной степени выраженности. Как видно из данных таблицы 1, средние значения НОМА-IR были достоверно выше у больных ХГС старшей возрастной группы (старше 40 лет). Существенное повышение средних значений НОМА-IR выявлялось у пациентов с повышенным ИМТ (≥ 25 кг/м²) и наличием абдоминального ожирения. У этих пациентов частота выявления инсулинорезистентности была достоверно выше (51,5–56,4%), чем у больных без аналогичных признаков (соответственно 23,4–13,9%). Результаты корреляционного анализа подтвердили тесную связь инсулинорезистентности у больных ХГС с признаками нарушения жирового обмена. Также была получена положительная корреляция между значениями НОМА-IR и ИМТ ($p < 0,01$), а также НОМА-IR и объемом талии ($p < 0,01$).

Далее в соответствии с планом исследования проводилась оценка изменений индекса НОМА-IR и частоты выявления инсулинорезистентности в за-



висимости от характеристик ХГС (активности АЛТ, уровня тимоловой пробы, стадии фиброза печени, генотипа вируса).

Как известно, уровень АЛТ в крови относят к общепринятым критериям активности ХГС. У больных этот показатель может длительно не отличаться от нормы, независимо от активности вирусной инфекции и морфологических характеристик гепатита. Между тем наличие и выраженность цитолитического синдрома сохраняет значение индикатора активности гепатита у большинства пациентов ХГС.

По активности АЛТ были выделены 2 группы пациентов: с показателем в пределах нормальных колебаний (≤ 40 МЕ/л) и повышенной активностью фермента (более четырех норм ≥ 160 МЕ/л). По уровню тимоловой пробы также были выделены пациенты с нормальным (≤ 5 ЕД) и повышенным значением показателя ($\geq 7,5$ ЕД). По выраженности фиброза печени больные разделены на группы с отсутствием или слабовыраженным фиброзом (F0–F1) и с умеренным или выраженным фиброзом вплоть до цирроза (F2–F4).

Как следует из данных, представленных в таблице 1, различий средних величин НОМА-IR и частоты инсулинорезистентности в зависимости от генотипа вируса гепатита С обнаружено не было. У больных с признаками биохимической активности ХГС отмечалась тенденция к более высокому уровню НОМА-IR. При повышенном уровне тимоловой пробы, отражающей активность мезенхимального воспаления, инсулинорезистентность встречалась достоверно чаще. Корреляционный анализ подтвердил наличие достоверной связи между ИМТ и тимоловой пробой ($p < 0,05$). При выраженном фиброзе печени имела место тенденция к более высокому значению НОМА-IR.

Учитывая связь инсулинорезистентности и нарушений жирового обмена, особый интерес представлял анализ величины НОМА-IR у 36 больных ХГС с нормальной массой тела и отсутствием абдоминального ожирения. Так, у 13,9% пациентов (5 больных) из этой группы НОМА-индекс был $\geq 2,27$, что указывало на наличие инсулинорезистентности. У этих же больных отмечался более высокий средний уровень активности АЛТ $138,2 \pm 47,7$ ($p < 0,05$). При этом у 4 из 5 обследованных пациентов активность основного фермента цитолиза в 3–4 раза превышала нормальный уровень.

Результаты наших исследований выявили инсулинорезистентность (по уровню НОМА-индекса $\geq 2,27$) у 36% больных ХГС с минимальными клиническими проявлениями заболевания, компенсированными или субкомпенсированными функциями печени. Также была выявлена тенденция к более активному (по биохимическим показателям) течению ХГС у больных с наличием инсулинорезистентности, что нуждается в дальнейшем изучении. Выявленные у больных ХГС признаки инсулинорезистентности оказались связанными с нарушением жирового обмена. У 5 из 36 (14%) пациентов с ХГС без признаков абдоминального ожирения и с нормальной массой тела диагностировалась ин-



сулинорезистентность, которая может иметь в том числе и «вирусную» природу. У большинства пациентов инсулинорезистентность сочеталась с избыточной массой тела и/или признаками абдоминального ожирения. Данный факт позволял судить о роли сопутствующих хронической вирусной инфекции метаболических нарушений, сопровождающихся снижением чувствительности тканей к инсулину. В отношении терапии заболевания накоплены убедительные данные о том, что инсулинорезистентность и стеатоз печени при ХГС являются независимыми предикторами низкой эффективности противовирусной терапии интерферонами [15, 26, 27]. В связи с этим возникает необходимость учитывать их наличие при ХГС для совершенствования терапевтической тактики. Кроме этого, рассматривая имеющиеся варианты противовирусного лечения, включающие как пегелированные, так и обычные интерфероны, можно сделать вывод о необходимости оценки их влияния на инсулинорезистентность. Так, имеются примеры, свидетельствующие о меньшем воздействии на чувствительность к инсулину препаратов интерферона короткого действия, например Альтевира в стандартной дозировке по 3–5 млн ЕД 3 раза в неделю.

Данный факт, безусловно, требует более детального исследования, однако указанный вариант терапии следует рассматривать как вариант выбора у пациентов со 2 и 3 генотипами вируса гепатита С. Имеющийся опыт терапии пациентов с неалкогольным стеатогепатитом, в патогенезе которого установлена существенная роль инсулинорезистентности, состоит в использовании фармакологических средств, действие которых непосредственно направлено на повышение чувствительности тканей к инсулину (снижение инсулинорезистентности). С этой целью применяют препараты метформин (группа бигуанидов), розиглитазон и пиоглитазон (группа тиазолидиндионов) [28, 29]. Имеется небольшой опыт, свидетельствующий о возможности применения этих препаратов для коррекции инсулинорезистентности при ХГС. Накапливается информация по оценке различных схем их применения, однако убедительно обоснованные практические рекомендации пока не разработаны. При неалкогольном стеатогепатите получены положительные результаты применения препаратов альфа-липовоей кислоты, что позволяет рассматривать эту группу препаратов как средства патогенетической терапии ХГС. Немалый интерес также представляют фармакологические средства, оказывающие гепатопротективное действие и обеспечивающие коррекцию метаболических нарушений, которые используются для лечения метаболического синдрома. Среди них препараты урсодезоксихолевой кислоты и средства, содержащие эссенциальные фосфолипиды.

Особое значение у пациентов с ХГС и инсулинорезистентностью имеет оценка темпов фиброгенеза в печени, так как наличие 2 этиологических факторов требует особого фармакологического контроля над этим процессом. В этой связи наиболее обоснованными к применению являются комбинированные



лекарственные средства, включающие кроме эссенциальных фосфолипидов антифибротическую составляющую. Из известных в современной фармакологии веществ таким действием обладает глицирризиновая кислота, которая непосредственно воздействует на фаго-цитоз, активность естественных киллеров крови. Кроме этого, она напрямую изменяет взаимодействие протеаз и металлопротеиназ в пространстве Диссе, меняя структуру взаимодействия клеток синусоидального компартмента. В дополнение к этому глицирризиновая кислота активирует систему мононуклерных макрофагов, обладая противовирусным эффектом и иммуномодулирующей активностью.

Полученные данные послужили основой для разработки комбинированного лекарственного средства–препарата Фосфоглив, включающего оптимальное сочетание эссенциальных фосфолипидов и глицирризиновой кислоты. Данное лекарственное средство обладает способностью комбинированного противовирусного, мембранно-стабилизирующего и антифибротического действия на печень и может рассматриваться как вариант стандарта в терапии пациентов с ХГС и инсулинорезистентностью. Важным является тот факт, что использование Фосфоглива возможно как в варианте дополнения к противовирусному лечению, так и в виде монотерапии.

Таким образом, изучение влияния инсулинорезистентности на течение ХГС является важным аспектом в понимании процессов развития заболевания, особенно при быстрой манифестации цирроза печени. При этом все имеющиеся способы лечения и формирующиеся новые терапевтические подходы следует оценивать в том числе и по влиянию на инсулинорезистентность, как одному из показателей прогрессирования этого заболевания.

Литература:

1. *Poynard T., Ratziu V., Charlotte F. et al. Rates and risk factors of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C // Hepatology. 2001. Vol. 34. P. 730–739.*
2. *Kahn R., Buse J., Ferrannini E. et al. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal: joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetys // Diabetes Care. 2005. Vol. 28. P. 2289–2304.*
3. *Напоунех I.A., Feldstein A.E., Lopes R. et al. Клиническое значение метаболического синдрома у больных хроническим гепатитом C // Клиническая гастроэнтерология и гепатология. Русское издание. 2010. Т. 3. № 3. С. 158–164.*
4. *Marra F. Leptin and liver fibrosis: a matter of fat // Gastroenterology. 2002. Vol. 122. P. 1529–1532.*



5. Ikejima K. et al. *Leptin receptor-mediated signaling regulates hepatic fibrogenesis and remodeling of extracellular matrix in the rat* // *Gastroenterology*. 2002. Vol. 122. P. 1399–1410.
6. Kamada Y. et al. *Enhanced carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in mice lacking adiponectin* // *Gastroenterology*. 2003. Vol. 125. P. 1796–1807.
7. Ortiz V., Berenguer M., Rayon J.M. et al. *Contribution of obesity to hepatitis C – related fibrosis progression* // *Am. J. Gastroenterol.* 2002. Vol. 97. P. 2408–2414.
8. Rubbia-Brandt L., Fabris P. et al. *Steatosis affects chronic hepatitis C progression in a genotype specific way* // *Gut*. 2004. Vol. 53. P. 406–412.
9. Monto A., Alonzo J., Watson J.J. et al. *Steatosis in chronic hepatitis C: relative contributions of obesity, diabetes mellitus, and alcohol* // *Hepatology*. 2002. Vol. 36. P. 729–736.
10. Adinolfi L.E., Gambardella M., Andreana A. et al. *Steatosis accelerates the progression of liver damage of chronic hepatitis C patients and correlates with specific HCV genotype and visceral obesity* // *Hepatology*. 2001. Vol. 33. № 6. P. 1358–1364.
11. Lo Iacono O., Venezia G. et al. *The impact of insulin resistance, serum adipocytokines and visceral obesity on steatosis and fibrosis in patients with chronic hepatitis C* // *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2007. Vol. 25. P. 1181–1191.
12. Kawaguchi T., Yoshida T., Harada M. et al. *Hepatitis C virus downregulates insulin receptor substrates 1 and 2 through up-regulation of suppressor of cytokine signaling 3* // *Am. J. Pathol.* 2004. Vol. 165. P. 1499–1508.
13. Shintani Y., Fujie H., Miyoshi H. et al. *Hepatitis C virus infection and diabetes: direct involvement of the virus in the development of insulin resistance* // *Gastroenterology*. 2004. Vol. 126. P. 840–848.
14. Hotamisligil G.S., Murray D.L., Choy L.N., Spiegelman B.M. *Tumor necrosis factor alpha inhibits signaling from the insulin receptor* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1994. Vol. 91. P. 4854–4858.
15. Romero-Gomez M., Del Mar Vilorio M., Andrade R.J. et al. *Insulin resistance impairs sustained response rate to peginterferon plus ribavirin in chronic hepatitis C patients* // *Gastroenterology*. 2005. Vol. 128. P. 636–641.
16. Paradis V., Perlemuter G., Bonvoust F. et al. *High glucose and hyperinsulinemia stimulate connective tissue growth factor expression: a potential mechanism involved in progression to fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis* // *Hepatology*. 2001. Vol. 34. P. 738–744.



17. Mason A.L., Lau J.Y., Hoang N. et al. Association of diabetes mellitus and chronic hepatitis C virus infection // *Hepatology*. 1999. Vol. 29. P. 328–333.
18. Mehta S.H., Brancati F.L., Sulkowski M.S. et al. Prevalence of type 2 diabetes mellitus among persons with hepatitis C virus infection in the United States // *Ann. Intern. Med.* 2000. Vol. 133. P. 592–599.
19. Reddy K.R., Govindarajan S., Marcellin P. et al. Hepatic steatosis in chronic hepatitis C: baseline host and viral characteristics and influence on response to therapy with peginterferon alpha-2a plus ribavirin // *J. Viral. Hepat.* 2008. Vol. 15. № 2. P. 129–136.
20. Hui J.M., Sud A., Farrell G.C. et al. Insulin resistance is associated with chronic hepatitis C virus infection and fibrosis progression // *Gastroenterology*. 2003. Vol. 125. P. 1695–1704.
21. Bach N., Th ung S.N., Schaffner F. The histological features of chronic hepatitis C and autoimmune chronic hepatitis: a comparative analysis // *Hepatology*. 1992. – Vol. 15. № 4. P. 572–577.
22. Zaitoun A.M., Al Mardini H., Awad S. et al. Quantitative assessment of fibrosis and steatosis in liver biopsies from patients with chronic hepatitis C // *J. Clin. Pathol.* 2001. Vol. 54. P. 461–465.
23. Lonardo A., Adinolfi L.E., Loria P. et al. Steatosis and hepatitis C virus: mechanisms and significance for hepatic and extrahepatic disease // *Gastroenterology*. 2004. Vol. 126. P. 586–597.
24. Rubbia-Brandt L., Quadri R., Abid K. et al. Hepatocyte steatosis is a cytopathic effect of hepatitis C virus genotype 3 // *J. Hepatol.* 2000. Vol. 33. P. 106–115.
25. Westin J., Nordlinder H., Lagging M. et al. Steatosis accelerates fibrosis development over time in hepatitis C virus genotype 3 infected patients // *J. Hepatol.* 2002. Vol. 37. P. 837–842.
26. D'Souza R., Sabin C.A., Foster G.R. Insulin resistance plays a significant role in liver fibrosis in chronic hepatitis C and in the response to antiviral therapy // *Am. Gastroenterol.* 2005. Vol. 100. P. 1509–1515.
27. Байжанова Ж.Ж., Игнатова Т.М., Некрасова Т.П. Метаболический синдром у больных хроническим гепатитом С // *Клиническая гепатология*. 2010. Т. 6. № 1. С. 17–23.
28. Nair S., Diehl A.M., Wistman M. et al. Metformin in the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: a pilot open label trial // *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2004. Vol. 20. P. 23–28.
29. Uygun A., Kadayifci A., Isik A.T. et al. Metformin in the treatment of patients with non-alcoholic steatohepatitis // *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2004. Vol. 19. P. 537–544.



ВИДЫ БРАКОНИД РОДА *ROGAS* NESS (HYMENOPTERA, BRACONIDAE) УЗБЕКИСТАНА И ЗНАЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ИЗ НИХ КАК ЭНТОМОФАГОВ

Юлдашев Э.Ю., Шерматов Р.М., Султонов Г.Н.

*Ферганский филиал Ташкентской медицинской академии,
г. Фергана, Республика Узбекистан*

По литературным данным (Определитель насекомых европейской части СССР, т. III. Перепончатокрылые, часть четвертая, 1986) в Палеарктике известны около 100 видов этого рода. В фауне Средней Азии до настоящего времени было обнаружено 14 видов.

Материал и методика работы. Данная работа выполнена на основании обработки материала, собранного в 1974-2008 гг. в различных районах республики. Бракониды собраны кошением энтомологическим сочком в различных агро- и естественных биоценозах, выведением паразитов из собранных и содержащихся в лаборатории гусениц совок, в основном, на хлопчатнике, томатах и люцерновых полях. Некоторое количество особей пойманы на свет электрической лампы.

Результаты исследований. В результате камеральной обработки собранного материала обнаружили 9 видов этого рода браконид. Ниже на основании литературных данных (Теленга, 1941; Тобиас 1971, 1990; Абдинбекова, 1971; указанный выше определитель браконид) приведены сведения об их распространении, составе хозяев, а также, указаны наши материалы.

1. *Rogas aestuosus* Reinh.

Распространение: Юг; Кавказ, Ср. Азия.-Юго-восток. Средиземноморья.

Хозяева: *Heliothis peltigera* Den et Schiff., *Autographa gamma*.

Материал: Туракурган, 28.V-1986, 1 ♀, ябл. сад, на траве.

2. *Rogas dimidiatus* Spin.

Теленга, 1941, 183.

Распространение: Вся Палеарктика.

Хозяева: Очень многоядный паразит.

Материал: В Узбекистане повсеместно. Собраны довольно большое количество особей на культурных и естественных биоценозах, а также, на свет. Лет. IV-IX. Также выведены нами и другими исследователями из озимой и хлопковой совок на хлопчатнике и томатах. Собирался в 1974-2005 гг.

3. *Rogas ductor* Thunb.

Теленга, 1941:159.



Распространение: Центральная и южная Россия, Кавказ, Казахстан, Ср. Азия, (Туркмения), юг Сибири до Дальнего Востока. –Зап. Европа, Сев. Африка, Израиль, Ирак.

Хозяева: Паразит капустной совки, совки гаммы и др. бабочек.

Материал: Джизакская обл. Фариш. 26-IV-1980, 1 ♀, на разнотравье.

4. *Rogas bicolor* Spin.

Теленга, 1941:192.

Распространение: Вся Палеарктика.

Хозяева: Паразит гусениц многих видов бабочек.

Материал: В Узбекистане встречается повсеместно; лет IV-X; фруктовые сады, орехоплодный лес, люцерновые, хлопковые, овощные поля, не обработанные ценозы. Собирался в 1974-1987 гг.

5. *Rogas pallidator* Thunb.

Теленга, 1941 (*pellucens*)

Распространение: Кавказ, Ср. Азия, Сибирь, Приморский край–Зап. Европа, Афганистан. Монголия.

Хозяева: Паразит гусениц совок и многих других видов бабочек.

Материал: Ю.З. Кызыл-Кумы (Гужумды), 2.V. 1975, 4 ♀, 3 ♂, на всет; Шафиркан, 26. VI-1976, 1 ♀, овощные поля, Зааминский район, 18. V-1978, 1 ♂, степь на парнолистнике; Окр. г. Ферганы, 28. VIII-2005, 2 ♀, выведены из гусениц хлопковой совки на томате (Э.Юлдашев); Фергана, Бувайда 24. VIII-1999, 1 ♀, 1 ♂ из гусениц хлопковой совки на хлопчатнике (Р.Шерматов).

6. *Rogas rossicus* Kok.

Теленга, 1941:206.

Распространение: Вся Палеарктика, Индия, Бирма.

Хозяева: Очень многоядный паразит различных видов бабочек разных семейств, т.ч. хлопковой, озимой, малой наземной и др. совок.

Материал: Окр. Г. Маргилана, 29. VII-1976, 3 ♀, выведены из гусениц хлопковой совки на хлопчатнике (Э. Юлдашев).

7. *Rogas asnoldii* Tobias.

Тобиас 19.

Распространение: Азербайджан.

Материал: Кува (Ферг. обл.) опытная ст. Союз НИХИ, 17. V- 1986, 1 ♀, сад, томат (Э.Юлдашев).

8. *Rogas schirjaevi* Kok.

Теленга, 1941:153.

Распространение: Юг. Кавказ, Казахстан, юг Сибири до Дальнего Востока.



Материал: Кува (Ферг. обл.) опытная ст. Союз НИХИ, 17-27. V- 1986, 1 ♀, 1 ♂ сад, томаты.

9. *Rogas circumscriptus* Nees.

Теленга, 1941:213.

Распространение: Евр. часть России (повсюду), Кавказ, Казахстан, Сибирь до Дальнего Востока. –Зап. Европа. Хозяева: Паразит многих видов бабочек, в т.ч. и совок.

Материал: Фергана, 29. VIII-1990, 1 ♀, пойман на свет (Э.Юлдашев).

Следует отметить, что виды *Rogas arnoldii* Tobias и *R. Circumscriptus* Nees указывается для фауны Узбекистана нами впервые.

Из приведенных выше видов *Rogas rossicus* Kок, *R. pallidator* Thunb, *R. dimidiatus* Spin. играют важную роль в снижении численности вредителей хлопчатника и др. сельхозкультур.

Так, например, по данным Б. Жуманова (1989) в Кашкадарьинской области *Rogas testacea* (*R. Rossicus*) уничтожал 45,2% гусениц люцерновой пяденицы, *Rogas pallidator* 25-26% гусениц озимой совки 1-го поколения и *Rogas dimidiatus* 10-12% гусениц зимующего поколения этой совки. Нашими исследованиями, также, установлено значительная роль рогасов в снижении численности указанных совок совместно с другими паразитами.

Литература:

1. Абдинбекова А. Бракониды (*Hymenoptera, Braconidae*) Азербайджана. Изд-во «Элм», Баку-1975.
2. Жуманов Б. Миттилар оламига саёхат. Изд-во «Мехнат», Ташкент-1989.
3. Определитель насекомых европейской части СССР. Т. III. Перепончатокрылые. четвертая часть. Изд-во «Наука», Ленинградское отд-е, Ленинград, 1986.
4. Тобиас В.И. Обзор наездников браконид (*Hymenoptera, Braconidae*) фауны СССР. Сб. Паразитические насекомые-энтомофаги. Тр. ВЭО, том 54, 1971. Изд-во «Наука», Ленинградское отд-е, Ленинград, 1971.
5. Тобиас В.И. Бракониды Кавказа (*Hymenoptera, Braconidae*). Изд-во «Наука», Ленинградское отделение. Ленинград-1976.
6. Теленга Н.А. Насекомые перепончатокрылые, сем. *Braconidae* подсем. *Braconinae*, (продолжение) и *Sigalphinae*.-Фауна СССР, 5, 3:1-ХVII+466. Изд-во АН СССР, Москва+ Ленинград, 1941.



ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТОКСИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕЧЕНИ

Юлдашов Ж.А., Матрасулова Д.М., Пулатов Н.Н.
Ургенчский филиал Ташкентской медицинской академии,
г. Ургенч, Республика Узбекистан

Цель. Изучение ферментов различной локализации гепатоцитов при эндогенной интоксикации у больных с хроническими заболеваниями печени.

Материал и методы. У больных с хроническими заболеваниями печени определяли активность ферментов гепатоцитов, а также маркерных ферментов митохондрий.

Результаты. У больных с хроническими диффузными заболеваниями печени на фоне образования активных форм кислорода и эндогенной интоксикации отмечалась гиперферментемия за счет нарушения мембранных структур митохондрий гепатоцитов, а также стимуляции макрофагов в печени, что выражалось в увеличении концентрации цистатина С и катепсина В в крови. Повышение активности лизосомального фермента катепсина В может быть одной из причин гибели гепатоцитов и ускорения апоптоза.

Выводы. У больных с хроническим заболеванием печени на фоне эндогенной интоксикации и повышения продуктов ПОЛ происходит цитолитическое повреждение гепатоцитов и гиперферментемия.

Ключевые слова: токсический гепатит, апоптоз, гепатоцит, поражение печени, гиперферментемия.

Objective. To study enzymes of different localization of hepatocytes at endogenous intoxication in patients with chronic liver diseases.

Materials and methods. In patients with chronic liver diseases were determined enzyme activity of hepatocytes, as well as mitochondrial marker enzymes.

Results. In patients with chronic diffuse liver diseases on the background of formation of active oxygen forms and endogenous intoxication we observed hyperenzymemia due to disrupting membrane structures of mitochondria of hepatocytes, as well as stimulation of macrophages in the liver, resulting in higher concentrations of cystatin C and cathepsin B in blood. The increase in activity of the lysosomal enzyme cathepsin B may be one of the causes of death of hepatocytes and acceleration of apoptosis.



Conclusions. *In patients with chronic liver diseases on the background of endogenous intoxication and increase of lipid peroxidation products occurs cytolytic damage of hepatocytes and hyperenzymemia.*

Key words: *toxic hepatitis, apoptosis, hepatocyte, liver damage, hyperenzymemia.*

Многочисленными исследованиями доказано, что печень испытывает воздействие многочисленных токсических агентов, разных по силе и длительности, что приводит к расстройствам в системе макро- и микро-циркуляции. При усиленном процессе катаболизма или нарушении метаболизма развивается обструктивный холестатический синдром. В такой ситуации выделить какой-либо из вариантов клеточной гибели (апоптоз или некроз) в качестве единственного не представляется возможным. Можно говорить лишь о преимущественном характере [1,2,3].

В последнее время установлено, что гепатоциты экспрессируют различные семейства рецепторов (TNF-R1, DR4, DR5), которые представляют собой гомологичные внутриклеточные участки, называемые доменом смерти (DED). Последний активируется после связывания рецептора со специфическим лигандом. Специфическими лигандами для этих рецепторов являются TNF- α Fash и TRAIL. Повреждение гепатоцитов печени, вызванное активацией TNF-R1 рецептора, происходит в результате эн-дотоксемии и ишемических, реперфузионных поражений. Активирующим агентом при этом является фактор некроза опухоли- α (TNF- α). При этом активизируется митохондриальный путь гибели клетки путем активации лизосомальных протеиназ [5,6].

Анализ данных литературы свидетельствует о том, что эндотоксемия усиливает процессы апоптоза гепатоцитов и способствует гибели клеток. Следует, отметить, что в патогенезе развития хронического заболевания печени ведущая роль принадлежит сочетанным сдвигам в различных системах организма. В связи с этим особенно актуально изучение влияния эндотоксемии на активность ферментов различной локализации гепатоцитов при хронических заболеваниях печени.

Цель исследования. Изучение ферментов различной локализации гепатоцитов при эндогенной интоксикации у больных с хроническим заболеванием печени.

Материал и методы. Обследованы 29 больных с хроническим заболеванием печени с преобладанием цитолитического синдрома. Критериями включения были хронический гепатит в фазе реактивации, возраст старше 16 лет. Критериями исключения служили сердечно-сосудистые заболевания, сахарный диабет, бронхиальная астма, почечная патология, онкопатология, беременность. Возраст больных варьировал от 20 до 63 лет. Всем больным проводилось комплексное обследование.



В качестве маркерных ферментов цитоплазматической локализации в сыворотке крови определяли активность г-глутамилтрансферазы, щелочной фосфатазы (набор фирмы «Human»), в качестве маркерных ферментов митохондрий – малатдегидрогеназу, глутаматдегидрогеназу (оптический метод Асаитани, 1982).

Активность аконитатгидратазы, ФНО- α , цистатина С фирмы «БиоХим-Мак» (Россия), уровень молекул средней массы исследовали по методу Н.И. Габриэляна (1984). Активность антиоксидантной системы оценивалась по уровню малонового диальдегида (Стальная И.Д., 1977), активность лизосомального фермента катепсина В микро-методом А.А. Покровского. В исследованиях использовали иммуноферментный и биохимический анализаторы фирмы «Human».

Статистическую обработку данных осуществляли методом вариационной статистики с применением t-критерия Стьюдента. Результаты обработаны пакетом программ Statistica.

Результаты и обсуждение. Цитокиноопосредованное повреждение печени сопровождается выбросом в кровеносное русло обломков мембран гепатоцитов, ферментов и различных полипептидов. В зависимости от размера полипептиды и олигопептиды, молекулы средней массы улавливается на спектрофотометре при различной длине волны. Иначе их называют продуктами эндогенной интоксикации. У обследованных нами больных с хроническим заболеванием печени имеет место достоверное увеличение количества среднемолекулярных пептидов E254 в 1,7 и E280 в 1,4 раза, что свидетельствует об эндогенной интоксикации и увеличении в плазме крови уровня пептидов различной массы.

Эндотоксемия и цитокиновая атака на гепатоциты печени при внутрипеченочном холестазах вызывает «кислородный взрыв» клетки, который ассоциируется также с нарастанием пула молекул средней массы на фоне дисфункции системы ПОЛ и АОС, сопровождающейся истощением потенциала антиоксидантной системы и значимым нарастанием содержания малонового диальдегида в 1,7 раза ($p < 0,05$). Изменения изучаемых показателей свидетельствуют о высокой чувствительности к повреждающему действию как цитокинов, так и эндотоксинов печени, которые в свою очередь обеспечивают их клиренс.

Наблюдаемый в гепатоцитах патологический процесс сопровождается холестазами, который в общем виде представляет собой нарушение синтеза, секреции и оттока желчи на уровне желчных канальцев на фоне эндотоксемии и усиление процесса апоптоза гепатоцитов, в результате чего происходит гибель клеток желчных капилляров и выход ферментов в плазму крови. В этой ситуации мы наблюдаем достоверный рост активности г-глутамилтрансферазы в среднем в 4 раза ($p < 0,05$). Схожая динамика наблюдается относительно фермента щелочной фосфатазы, активность который в плазме крови у обследован-



ных была в 3 раза больше, чем у здоровых. Причиной этого является близкое расположение в мембране эпителия желчевыводящих протоков изучаемых ферментов, именно по-этому при деструкции мембран их активность в кровотоке повышается одновременно и почти в равной степени.

Известно, что в гибели клеток, в том числе гепатоцитов, важную роль играют окислительный стресс и повышенное образование активных форм кислорода [4,7]. В данной ситуации основным генератором активных форм кислорода являются митохондрии, в которых активные формы кислорода составляют до 1-2% от общего количества молекулярного кислорода. Активные формы кислорода являются одной из причин усиления проницаемости мембран митохондрий. Нарушение структурных компонентов мембран митохондрий на фоне эндотоксемии и активных форм кислорода приводит к выходу митохондриальных ферментов сыворотки крови, что указывает на нарушения в митохондриальном уровне [2,4].

Таблица 1.

Биохимические показатели крови у больных с ХДЗП		
Показатель	Здоровые лица (контроль), n=14	Больные с ХДЗП, n=29
Среднемолекулярные пептиды E254, усл. ед.	0,21±0,01	0,35±0,01*
Среднемолекулярные пептиды E280, усл. ед.	0,30±0,01	0,41±0,01*
Глутаматдегидрогеназа, ммоль/ч/л	15,4±0,91	35,1±3,21*
Малоновый диальдегид, ммоль/мл	1,03±0,11	1,74±0,21*
ФНО-α, пг/мл	198,4±12,6	401,6±14,1
Антиоксидантная активность, ммоль/мл	58,4±2,13	32,4±2,61*
α-глутатион-S-трансфераза, нг/л	412,1±11,8	1956,0±19,2*
g-глутамилтрансфераза, МЕ/л	36,3±1,12	91,9±3,41*
Щелочная фосфатаза, МЕ/л	68,4±5,11	226,4±11,7

Примечание. * $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Как видно из таблицы 1, у больных с хроническим диффузным заболеванием печени (ХДЗП) по сравнению со здоровыми лицами активность глутаматдегидрогеназы возрастает в 2,3 раза ($p < 0,05$).

Нарушение баланса между чрезмерной продукцией активных форм кислорода и недостаточностью функционирования антиоксидантной системы приводит к интенсификации свободно радикального окисления. Свободные радикалы образуются также при стимуляции клеток Купфера и секвестрации полиморфно ядерных нейтрофилов. Белковая молекула аконитатгидратазы легко разрушается активной формой кислорода вследствие деструкции железосерно-



го кластера в составе данного фермента, что приводит к его инактивации [2,3]. Это позволяет рассматривать динамику аконитатгидратазы в качестве критерия действия свободных радикалов.

Анализ полученных результатов указывает на значительное снижение активности аконитатгидратазы в сыворотке крови обследованных лиц в среднем в 2,4 раза (табл. 2).

Таблица 2.

Биохимические показатели крови у больных с ХДЗП		
Показатель	Здоровые лица (контроль), n=14	Больные с ХДЗП, n=29
Аконитатгидратаза, ед/мл	0,43±0,05	0,18±0,01*
Цистатин С, нг/мл	1037,1±14,2	1754±12,1
Протеин С, мг/л	1,14±0,18	0,85±0,07*
Фибриноген, г/л	3,14±0,41	3,01±0,43
Катепсин В, мкмоль/мин/г белка	28,7±2,04	43,8±3,19*

Примечание. * $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Как было отмечено выше, при стимуляции клеток Купфера образуются свободные радикалы, что также приводит к секреции низкомолекулярного белка–цистатина, который будучи эндогенным ингибитором цистеиновых протеаз регулирует активность катепсинов внеклеточного пула.

Отмеченное нами повышение концентрации цистатина С в сыворотке крови больных хроническим гепатитом направлено на ингибирование активности катепсина В или ее связывание.

Обнаруженное нами повышение концентрации цистатина С в сыворотке крови обследованных больных указывает на возможность использования данного показателя в качестве одного из маркеров стимуляции макрофагов при хронической поражении печени.

Исследования, проведенные у больных с хроническим диффузным заболеванием печени (ХДЗП), выявили снижение активности системы протеина С в плазме крови, что, видимо, обусловлено нарушением белоксинтезирующей функции печени. Кроме того, обнаружена положительная корреляция между содержанием в плазме крови протеина С и фибриногена (табл. 1,2).

Таким образом, у больных с хроническим диффузным заболеванием печени на фоне образования активных форм кислорода и эндогенной интоксикации отмечается гиперферментемия за счет нарушения мембранных структур митохондрий гепатоцитов. Наблюдается также стимуляция макрофагов печени, что выражается в увеличении концентрации цистатина С и катепсина В в



крови. На фоне нарушения белоксинтезирующей функции печени снижается концентрация протеина С в крови. Повышение активности лизосомального фермента катепсина В может быть одной из причин гибели гепатоцитов и ускорения апоптоза.

Выводы. 1. У больных с хроническим заболеванием печени на фоне эндогенной интоксикации и повышения продуктов ПОЛ отмечается цитолитическое повреждение гепатоцитов и состояние гиперферментемии.

2. Одним из маркеров активации макрофагальной системы печени являются цистатин С и катепсин В.

3. Состояние эндотоксемии у больных хроническим заболеванием печени сопровождается нарушением синтеза протеина С.

Литература:

1. Буеверов А.О. Лекарственные поражения печени как причина внутрипеченочного холестаза // *Клин. перспективы гастроэнтерол., гепатол.* – 2005. – №6. – С. 2-6.
2. Давыдов В.Г., Бойчук С.В. и др. Молекулярные механизмы апоптоза и некроза гепатоцитов // *Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* – 2006. – №5. – С. 11-18.
3. Ефременко Ю.Р., Контаринникова К.Н. Уровень свободных жирных кислот при метаболическом синдроме до и после лечения // *Клин. лаб. диагностика.* – 2008. – №9. – С. 60-61.
4. Ливанов Г.А., Калмансон М.Л., Сергеев О.В. и др. Коррекция нарушений транспорта кислорода и свободно радикальных процессов у больных с тяжелыми формами острых отравлений этанолом на фоне хронической алкогольной патологии // *Сиб. мед. журн.* – 2007. – №2. – С. 23-27.
5. Макарова В.К., Хомерики С.Г. Липиды сыворотки крови как биохимическое проявление алкогольного, вирусного поражения печени // *Клин. лаб. диагностика.* – 2007. – №5. – С. 17-19.
6. Borgognone M., Roma M.A. Signaling modulation ob bile salt mated necrosis liolatedrat hepatocytes // *Toxicol. Set.* – 2005. – Vol. 1, №1. – P. 114-125.
7. Andrade R.J., Robles M., Fernández-Castañer A. Assessment of druginduced hepatotoxicity in clinical practice: a challenge for – P. 329–340.

**ВСЕРОССИЙСКОЕ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЕ
ОБЩЕСТВО ЭПИДЕМИОЛОГОВ,
МИКРОБИОЛОГОВ
И ПАРАЗИТОЛОГОВ**

ТЕЗИСЫ



КОРРЕКЦИЯ ДИСБАКТЕРИОЗА КИШЕЧНИКА У ПАЦИЕНТОВ С ГАСТРОЭНТЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

Бисенова Н.М.¹, Ергалиева А.С.¹, Махамбетов К.О.², Талгатбекова Н.Т.²

¹Национальный научный медицинский центр,

²Медицинский университет Астана,
г. Астана, Республика Казахстан

Цель исследования. Актуальность терапевтического применения пробиотиков, как одного из рациональных методов коррекции дисбактериоза кишечника, обуславливается широким распространением данной проблемы во всем мире. Цель исследования – определить микробиологическую эффективность пробиотика «Биовестин» у пациентов с гастроэнтерологической патологией.

Материалы и методы. Проведено проспективное бактериологическое исследование на дисбактериоз толстой кишки 47 взрослых пациентов (женщин 36 (76,5%), мужчин 11 (23,4%). Первую группу составили больные с гастроэнтерологической патологией (n=47). Вторая группа – эти же больные, после применения пробиотика (n=23). С целью коррекции кишечной микрофлоры пациенты принимали пробиотик «Биовестин»® в течение 28 дней. К основным критериям бактериологической эффективности применения пробиотика относили: количественное содержание бифидобактерий, лактобактерий, кишечной палочки с нормальной ферментативной активностью, а также качественные и количественные изменения эшерихий с измененными свойствами, гемолитических форм и условно-патогенных микроорганизмов.

Результаты и обсуждение. Микробиоценоз фекалий пациентов обеих группы был представлен как облигатной, так и факультативной микрофлорой. В первой группе содержание бифидобактерий в количестве 10^8 КОЕ/г и выше составило 65,9%, лактобактерий, в количестве 10^6 КОЕ/г и выше у 17,0%, E.coli с нормальной ферментативной активностью в количестве 10^7 КОЕ/г и выше у 55,3% пациентов, во второй группе эти показатели составили 78,3%, 56,5% и 73,9% соответственно. Со стороны факультативной флоры в первой группе отмечается повышенное содержание дрожжеподобных грибов рода Candida – 4,2%, лактозонегативной кишечной палочки – 6,3% и плесневых грибов у 8,5% пациентов, во второй группе данные виды микроорганизмов не обнаруживались.

Выводы. Таким образом, микрофлора кишечника больных после применения пробиотика, характеризуется значительным повышением количества облигатной микрофлоры: лактобактеий, бифидобактерий, кишечной палоч-



ки с нормальной ферментативной активностью. В составе кишечного микробиоценоза у пациентов после приема пробиотиков уменьшается количество дрожжеподобных грибов рода *Candida*, лактозонегативной кишечной палочки и плесневых грибов.

СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ ГЕНИТАЛЬНЫМ ГЕРПЕСОМ

Нуруллаев Р.Р., Исмоилава Д.У., Юлдашов Ж.А.

*Ургенский филиал Ташкентской медицинской академии,
г. Ургенч, Республика Узбекистан*

К настоящему времени накопилось большое количество данных, свидетельствующих об участии свободно радикальных процессов в патогенезе инфекционных заболеваний. При этом универсальный процесс перекисного окисления липидов, в норме обеспечивающий условия для жизненно важных функций клетки, становится пусковым механизмом патобиохимических изменений. Этот процесс развивался бы бесконтрольно, если бы в клеточных элементах тканей не находились вещества, противодействующие его протеканию, получивших название антиоксидантов. Одним из таких веществ является металлопротеид церулоплазмин.

Цель работы. Определение содержания церулоплазмينا в плазме крови у больных генитальным герпесом. Под наблюдением находилось 30 больных генитальным герпесом. У 16 больных наблюдалась тяжелая форма болезни, у 14 – среднетяжелая. Мужчин было 12, женщин – 18. Диагноз генитального герпеса был подтвержден по результатам ПЦР и ИФА. Уровень церулоплазмينا определяли методом Раввина. Обследование проводилось в периоде обострения и ремиссии. Группу контроля составили 30 практически здоровых доноров. В результате проведенных исследований у больных генитальным герпесом в плазме крови отмечено повышение концентрации церулоплазмينا в стадии обострения заболевания. Наиболее выраженные изменения наблюдались у больных с тяжелым течением болезни. Фаза клинической ремиссии характеризовалась понижением концентрации церулоплазмينا, однако уровень его оставался еще достоверно выше, чем у здоровых лиц. Это свидетельствует о напряженности системы антиоксидантной защиты и в периоде ремиссии герпетической инфекции, что, по-видимому, обусловлено необходимостью инактивации по-вышенных концентраций активных форм кислорода.



НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОБИОТИКОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КОРОВ ПРИ СУБКЛИНИЧЕСКОМ МАСТИТЕ

Огай Д.К., Кутлиева Г.Д.

*Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан,
г. Ташкент, Республика Узбекистан*

Актуальность темы. Молочное скотоводство занимает одно из основных мест в продовольственном комплексе страны. Качество молока зависит от ряда факторов, однако, основным источником загрязнения молока на первичном этапе его получения являются больные маститом коровы. В молочном скотоводстве заболеванием, на долю которого приходится основная часть экономического ущерба, является мастит. По данным Международной молочной федерации, маститом ежегодно болеет около 25% поголовья дойного стада. При тяжелых формах патологического процесса вовлекается организм животного в целом, что является причиной преждевременной выбраковки животного [2, 3]. Основной проблемой последних лет является широкое распространение резистентных форм патогенных микроорганизмов и снижение эффективности ряда антибиотиков. Фундаментальные исследования современной биологической и медицинской науки позволили разработать и внедрить в практику новый класс препаратов – пробиотики. Они обладают широким спектром позитивных фармакологических эффектов и, кроме того, они значительно экологичнее и безопаснее многих других лекарственных средств [7]. Наиболее значимыми, с точки зрения терапевтической эффективности и технологичности, параметрами штаммов микроорганизмов для производства пробиотиков являются устойчивость к лизоциму, желчи и пищеварительным сокам, к антимикробным препаратам, высокая адгезивность и антагонистическая активность по отношению к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам [1,4,8]. В Узбекистане достигнуты большие успехи в области разработки и внедрения пробиотических препаратов на основе местных штаммов микроорганизмов лакто – бифидо, пропионо, колибактерий и бактерий группы *Vacillus*. В лаборатории «Генетики молочнокислых бактерий» Института микробиологии АН РУз имеется коллекция уникальных микроорганизмов обладающих, высокой антагонистической активностью и антибиотикоустойчивостью, повышенным уровнем продукции внеклеточных гидролаз, а также, устойчивостью к таким вредным агентам среды как желчь, высокое содержание соли и солей тяжелых металлов. На основе специфичности ряда производственных штаммов была получена серия заквасок и пробиотических препаратов для использования в медицинской практике для профилактики и лечения различных патологий желудочно-кишечного тракта человека. Промышленные образцы



препаратов, выработанные ООО «Ором- биопрепарат» также были испытаны в животноводстве призаболеваний инфекционного характера, в том числе коров. Большие успехи были достигнуты для лечения птиц, особенно цыплят. Данная исследовательская научная работа представляет большой научный и практический интерес. Цель и задачи исследований.

Цель наших исследований состояла в изучении терапевтической эффективности отечественных пробиотических препаратов при субклиническом мастите у коров, их влияния на качество молока коров после лечения.

Материалы и методы исследований. Экспериментальная часть работы была проведена на базе фермерского хозяйства «Тано» Ташкентской области. Лабораторные исследования проводились в лаборатории «Генетики молочнокислых бактерий» Института микробиологии АН РУз. В опытах были использованы 100 дойных голландских коров в возрасте 4-5 лет с живой массой 500-700 кг. Использовали лиофилизированные препараты «Лактобактерин» Ором и «Бифидумбактерин PL» в виде порошка. Повторность исследований трехкратная. Определение бактерицидной активности пробиотика проводили согласно «Методических указаний по ветеринарной микробиологии и иммунологии» (Т.С. Костенко и др., 1989). Материалом исследования служило молоко от коров, больных субклиническим маститом. Молоко исследовали после 10 кратного разведения от 0 до 8^ю. Посев проводили из последних трех разведений (10⁶, 10⁷, 10⁸) на следующие питательные среды: солевой агар – для выделения непатогенных и патогенных бактерий, маннитольный агар для выделения стафилококков; агар Эндо – для выделения кишечной палочки и сальмонелл, агар Сабуро – для выделения микроскопических грибов. Из всех разведений, кроме первого, проводили посев на обычные питательные среды: МПА (мясо-пептонный агар) и МПБ (мясо-пептонный бульон). Все посеvy культивировали в термостате при температуре 37 °С в течение 24 часов. Из выросших культур готовили мазки и микроскопировали. Выделение чистой культуры возбудителя проводили из колоний выросших на селективных средах. Ферментативную активность выделенных культур изучали на средах Гиса, посев культур осуществляли по общепринятой методике. После инкубирования в термостате учитывали результат ферментации углеводов. В результате диспансеризации всего поголовья коров по состоянию молочной железы субклинический мастит был выявлен у 50% животных.

Молоко коров, больных субклиническим маститом, закисло в 1,67 раза быстрее, чем молоко от здоровых животных. Так как в молоке здоровых животных присутствует так называемая бактерицидная фаза, предупреждающая развитие патогенной микрофлоры, продолжительность которой в условиях термостатирования 2-3 часа. Ежедневно молоко от опытных коров исследовали с помощью быстрого маститного теста (проба с димастином) на обнаружение скрытого мастита, а также использовали бромтимоловую пробу по Эрсту и пробу с мастит-диагностом. В лечебных целях пробиотические препараты содержали не



менее 10^9 - 10^{10} КОЕ на 1 г живых молочнокислых бактерий. Препараты вводили животным внутрь с кормом, обработанным их водной суспензией. Препараты применяли постоянно в течение 7-10 дней. Среднее количество вводимого препарата составило 25 г на 1 голову. Препарат вводили 1 раз в сутки до выздоровления коров, которое подтверждали быстрым маститным тестом и пробой отстаивания. Выздоровление определяли по двухкратной отрицательной реакции с димастинном. У всех животных до и после выздоровления брали пробы молока. В пробах молока коров были исследованы физико-химические и санитарно-гигиенические показатели: жирность, плотность, СОМО, белок, кислотность, бактериальная обсемененность, содержание ингибирующих веществ. Молоко было подвергнуто микроскопическому, бактериологическому и биологическому исследованию.

Выводы. Полученные данные позволили установить, что возбудителем субклинического мастита у коров является патогенный стафилококк (*St. epidermidis*, *St. aureus*), сопутствующей микрофлорой были кишечная палочка (*E. coli*) и бактерии группы кишечной палочки (БГКП), стрептококки, дрожжи, синегнойная палочка и др. Вышеперечисленные микроорганизмы были обнаружены в 100% проб молока, взятых от коров с субклиническим маститом. Идентификация данной микрофлоры была подтверждена ферментативными и патогенными свойствами возбудителей. Результаты проведенных исследований показали, что препарат обладает бактерицидной активностью к возбудителям субклинического мастита (*St. epidermidis*, *St. aureus*), что подтверждается абсолютным подавлением роста возбудителей микрофлоры на жидких и плотных питательных средах в опытах *in vitro* и микроскопическими исследованиями. Практическая значимость работы заключается в разработке экологически безопасного, эффективного способа лечения лактирующих коров при субклиническом мастите, исключающую медикаментозную нагрузку на организм животного, необходимость браковки молока в процессе лечения, повышающий факторы лечения.

ВОЗНИКНОВЕНИЯ БОЛЕЗНЕЙ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ И ЕГО ПРИЧИНЫ У ВОЕННОСЛУЖАЩИХ

Расулова М.Т., Райимов А.Х.

*Ферганский филиал Ташкентской медицинской академии,
г. Фергана, Республика Узбекистан*

Аннотация. В работе приводятся материалы полученные при изучении влияния высокого уровня содержания холестерина в крови в появлении болезни кровеносной системы а именно, атеросклероза у людей различных возрастов военнослужащих.



Ключевые слова: атеросклероз, сгущение, холестерин, бляшки, сахарный диабет, сосуды, Либерман - Бурхард.

Key words: Atherosclerosis, condensation, cholesterol, plaques, a diabetes mellitus, vessels, Liberman – Burkhard.

Известно, что среди болезней сердечно-сосудистой системы атеросклероз занимает одно из основных мест. Атеросклероз вызывается отложением на стенках кровеносных сосудов сгущения холестерина с последующим разрастанием в плотной соединительной ткани. Вокруг этих отложений, образуются так называемые атеросклеротические бляшки. Суживают просвет сосудов и ухудшают кровоснабжение органов.

Установлено, что атеросклероз развивается в большинстве случаев медленно, незаметно для организма и в течение ряда лет может ничем себя не проявлять. После ее развития в сосудах, появляется болезненное состояние происходит нарушения в обмене веществ, особенно в жиров и белков. Как было указано выше, атеросклероз сосудов развивается на фоне высокого содержания в крови холестерина. Многочисленным экспериментом доказано, что при некоторых болезнях, таких как сахарный диабет, гипофункция щитовидной железы наблюдается замедленное течение крови по сосудам, что обусловлено высоким содержанием холестерина. Таким образом, большое отрицательное значение высокого содержания холестерина в крови доказано многочисленными экспериментальными исследованиями.

Норма холестерина крови у взрослых – 3.9-5.2 ммоль/л у детей и подростков значительно отличается от нормы у взрослых.

Методы исследований. Основа прямых методов определения холестерина – реакция Либермана-Бурхарда (метод Ильки).

Результаты исследований и их обсуждение. Нами были проведены исследования по изучению содержания в крови холестерина по возрастным группам (18-29,30-47,48-53,54-60,61-71,72-77) военнослужащих в области. В результате практического анализа установлено существование слабой прямой корреляционной связи между содержанием холестерина и возрастом человека. Так как, с увеличением возраста прямо пропорционально увеличивается количество холестерина ($r=-0.10$)

Меры профилактические мероприятия необходимо проведении всем военнослужащих, особенно склонным к атеросклерозу. Для этого в первую очередь необходимо знать показатель холестерина у военных. При результате выше 200 мг/л анализ следует сдать повторно. При нормальном показателе тест проходят через 3 года. Если обнаружен высокий уровень холестерина у военнослужащих, то врач принимает необходимые меры.

Выводы. Для предупреждения болезни необходимо вести здоровый активный образ жизни, регулярно заниматься спортом, проходить через врачебный контроль, соблюдать диету, сократить принятие алкоголя.



ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЧИСТКА АНТИМИКРОБНОЙ СУБСТАНЦИИ ИЗ СУПЕРНАТАНТА МЕСТНОГО ШТАММА *L.PLANTARUM* 42

Сохибназарова Х.А., Огай Д.К., Миралимова Ш.М., Кутлиева Г.Д.
*Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан,
г. Ташкент, Республика Узбекистан*

Актуальность. В настоящее время одним из перспективных и востребованных направлений микробиологии является поиск новых штаммов молочнокислых бактерий для создания пробиотических препаратов и продуктов функционального питания. В связи с этим, изучение биологических свойств новых штаммов этих микроорганизмов является актуальной и своевременной задачей. Антагонистические свойства молочнокислых бактерий обусловлены продукцией органических кислот (молочной, уксусной), пероксида водорода и образованием субстанций, схожих с антибиотиками (бактериоцинов). Образование указанных органических кислот из углеводов приводит к снижению рН среды и предотвращает развитие других микроорганизмов. Другим ценным биологическим свойством является бактериоцинообразование. Спектр активности вырабатываемых бактериоцинов определяет степень антагонизма штамма и обуславливает характер межбактериальных взаимодействий.

Первой ступенью выделения бактериоцинов является скрининг лактобацилл, выделенных из различных источников, по степени активности и в зависимости от источника выделения: растительные субстраты, пищевые продукты, кишечник людей и животных. Mogenoetal (1999) выделил несколько штаммов из пищевых продуктов (сыра и молока).

В настоящее время бактериоцины МКБ широко исследуются, однако лишь в нескольких работах описана их химическая структура. Это связано со многими трудностями, связанными с их очисткой (Maskayetal, 1997). Методы экстракции бактериоцинов основаны на их родстве (аффиногенности) к органическим растворителям, в растворимости в концентрированных солевых растворах, при различных значениях рН среды. Для проявления активности бактериоцинов очень важно наличие гидрофобных районов в молекулах бактериоцинов, поскольку инактивация микроорганизмов бактериоцинами зависит от гидрофобного взаимодействия между бактериальными клетками и молекулами бактериоцинов (Burlanek, Yousef, 2000). Некоторые бактериоцины в природе существуют в виде агрегатов с высокой молекулярной массой (от 30 до 300 кДа). Эти агрегаты могут маскировать частично или полностью антимикробную активность бактериоцинов в процессе очистки и вызывать ошибки в определении молекулярного веса. Это особенно видно в работе с низкомолекуляр-



ными бактериоцинами, которые легко взаимодействуют с экстрацеллюлярным материалом лизированных клеток, например, с осколками клеточной стенки и мицеллами липотейхоевой кислоты и другими неполярными соединениями, находящимися в культуральной жидкости (Cintasetal, 2001). В указанных случаях, макромолекулярный комплекс можно дезагрегировать такими агентами, как мочевины и SDS (Muriana, Klaenhammer, 1991) ультрафильтрацией (Muriana, Klaenhammer, 1987) или удаляя липидный материал экстракцией метаном – хлороформом или этиленом-этилэфиром (Contrerasetal, 1997). Бактериоцины извлекаются из супернатанта, свободного от клеток, концентрируются и методом, позволяющим сепарирование фракций в соответствии с их размером и/или физико-химическими свойствами (Cintasetal, 2001). В работе Prema (2013) описана экстракция бактериоцинов.

Материалы и методы. *L. plantarum*42 выращивали в 250 мл МРС-бульона (рН 6,8), культуральный супернатант получали центрифугированием при 10000 г_гм в течение 20 мин при 4°С, супернатант подвергали осаждению добавлением сульфата аммония при 40% насыщении. Смесь встряхивали 2 ч при 4°С и снова центрифугировали при 10000 г_гм в течение 20 мин. Осадок диализовали и ресуспендировали в 10 мл 0,05 М буферного раствора калия фосфата (рН=7,0). Количественное определение бактериоцина было выполнено методом диффузии бактериоцина из лунок (Tagg, McGiven, 1971). Для этого ночная бульонная культура *L. plantarum*, выращенная в МРС-бульоне центрифугировалась при 10000 г_гм 10 мин, затем супернатант очищали методом микрофильтрации (0,45 мм размер поры). Этот супернатант серийно разводили 1:200. Затем 50 µl после разведения в 2 раза вносили в лунки диаметром 5 мм на МРС-агаре в чашках Петри; на МРС-агар засеивали сплошным газоном индикаторные штаммы. Чашки с посевами инкубировали при 37°С 24 ч, затем учитывали зону ингибирования роста тест-культур бактериоцином, содержащемся в супернатанте. Антибактериальную активность культур (АУ/мл) вычисляли исходя из диаметра подавления роста индикаторных штаммов, используя одну единицу (АУ), определяемую как реципрокную после наибольшего разведения, показывающего зону ингибирования. Для исследования бактериоциногенности сырого экстракта белков, стерильные бумажные диски размером 5 мм замачивают в растворе экстракта белков (1 мкг сырой экстракт белка растворяется в 100 мкл стерильной дистиллированной воды) и накладывают на MRSagar, затем покрывают вторым слоем мягкого гидролизованного агара с концентрацией энтерококков 10⁶/мл. Отмечали наличие бактерицидного действия сырого экстракта белков на индикаторную культуру энтерококков.

Выводы. Испытание штамма *Enterococcus faecalis*OGIFR на чувствительность дискодиффузионным методом при внесении в лунку 5 мкл экстракта зона подавления роста составляет 22 мм. Таким образом, выделен сырой экстракт белковой фракции из культуральной жидкости *L. plantarum* 42, обладающий антимикробным действием к фекальным энтерококкам.



АДАПТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОФЛОРЫ СОДЕРЖИМОГО ЖЕЛУДКА ПОСЛЕ ТОТАЛЬНОЙ КОЛЭКТОМИИ

Шерматов Р.М.

*Ферганский филиал Ташкентской медицинской академии,
г. Фергана, Республика Узбекистан*

Цель исследования. Изучить особенности адаптационно-приспособительных изменений микрофлоры содержимого желудка после тотальной колэктомии.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на 50 взрослых белых беспородных крысах–самцах с исходной массой тела 150–220г., содержащихся в одинаковых условиях виварии. У подопытных животных произведено тотальная резекция толстой кишки по методу Ayletta и контрольных животных (10) вскрывали брюшную полость и после ревизии внутренних органов зашивали как у подопытных животных. Забой опытных и контрольных животных производили на 7, 15, 30, 60, 90 сутки в утренние часы натощак под легким эфирным наркозом и брали содержимого желудка для бактериологического исследования в стерильных условиях в фосфатный буферный раствор в соотношении 1:10, затем материал разводили в 10 раз.

С целью выделения и идентификации чистых культур аэробных микроорганизмов исследуемый материал засевали на дифференциально – диагностические питательные среды: Эндо и Левина (подсчет группы кишечных бактерий – *Escherichia*, *Proteus*), среду Калины (энтерококков), кровяной агар (количественной учет аэробных бактерий), желточно – солевой агар (подсчет стафилококков), среду Сабуро (*Candida* и других грибов).

Аспорогенные анаэробные микроорганизмы (бифидобактерии, бактероиды) выделяли капельным методом с использованием часовых стекол, описанным Лизько и соавт. и применением специальных селективных питательных сред. Для подсчета и выделения молочнокислых бактерий (лактобациллы) применяли среду МРС– 4.

Идентификацию бифидобактерий, бактероидов, лактобацилл и энтерококков проводили по культуральным, морфологическим и тинкториальным свойствам.

Полученные результаты выражали в десятичных логарифмах на 1 мл содержимого желудка.

Результаты и обсуждение. Анализ полученных данных показал, что в норме в содержимом желудка лактобациллы и аспорогенная анаэробная микрофлора доминируют над аэробной аутофлорой.



Дисбактериоз сохраняется на 30-60-й дни, а процесс восстановления количественного состава микрофлоры содержимого желудка начинается на 90 день после тотальной резекции толстой кишки.

Результаты сравнительного исследования количественных соотношений лактобацилл, бифидобактерий и бактероидов показали, что в норме почти преобладают молочнокислые бактерии. В ранние сроки после тотальной резекции толстой кишки (7-15-30-й дни) бифидобактерии и лактобациллы оказались более чувствительными, чем бактероиды.

По нашим наблюдениям, количество бифидобактерии начинается восстанавливаться к 30-му дню после тотальной резекции толстой кишки, а на 60 – 90-й дни их количество увеличивается, что, видимо, объясняется наличием более совершенного адаптационного механизма.

В ранних сроках (7-15-30-й дни) наблюдения в содержимом желудка отмечается относительный дисбактериоз, характеризующийся повышенным количеством грибов рода *Candida* и бактероидов на фоне невосстановленного количества лактобацилл и бифидобактерий.

Результаты проведенных исследований показали, что в норме в содержимом желудка интактных крыс кокковая группа бактерий преобладает над кишечной, а энтерококки и кишечные палочки доминируют над стафилококками и протеем. Проникновение кокковых бактерий с пищей из полости рта, их устойчивость к кислой среде объясняют их преобладание в желудке.

В содержимом желудка интактных крыс грибы рода *Candida* и другие занимают в количественном отношении промежуточное положение между кокковой и кишечной группами. В ранние сроки (7-15-30-й дни) после тотальной резекции толстой кишки количество всех видов аэробной микрофлоры увеличивается на 2 раза с преобладанием кокковой группы над кишечной. К концу срока после тотальной резекции толстой кишки (90-й день) повышенное количество аэробных микробов сохраняется.

Отмечается увеличение количества грибов рода *Candida* и другие во все сроки наблюдения по сравнению с контролем.

В последние годы сообщалось о роли грибов рода *Candida* и бактероидов в развитии патологических процессов при хронических и хирургических заболеваниях.

При тотальной резекции толстой кишки на 15-30-й дни наблюдения отмечается быстрое увеличение количества бактероидов в содержимом желудка, а в последующие сроки их количество постепенно уменьшается.

Таким образом, во всех сроках после операции, отмечалось резкое изменение состава микрофлоры содержимого желудка. Эти изменения – характеризовались значительным уменьшением анаэробных бессиловых палочек, молочнокислых бактерий и стафилококков и повышением дрожжевых и дрожжеподобных грибов рода *Candida*, патогенных энтерококков, кишечных палочек и палочек протей.



Выводы. 1. В содержимом желудка интактных крыс лактобациллы, бифидобактерии и бактероиды преобладают над аэробной микрофлорой.

2. В адаптивной перестройке микрофлоры желудка после тотальной резекции толстой кишки прослеживается отчетливая стадийность, где можно выделить две периода:

- период ранних после операционных изменений (7-30 суток);
- период адаптации (60-90 суток).

3. При тотальной резекции толстой кишки в ранние сроки развивается дисбактериоз, характеризующийся уменьшением количества лактобацилл, аспорогенных анаэробов и увеличением количества всех исследованных видов аэробных микроорганизмов, к концу срока наблюдения грибов рода *Candida* и бактероидов в содержимом желудка сохраняется повышенное содержание аэробной аутофлоры.

К ИЗУЧЕНИЮ ФАУНЫ НАЕЗДНИКОВ-БРАКОНИД (HYMENOPTERA, BRACONIDAE) НА ПОЛЯХ ХЛОПЧАТНИКА И СМЕЖНЫХ С НИМ КУЛЬТУР В ФЕРГАНСКОЙ ДОЛИНЕ

Юлдашев Э.Ю., Юлдашева М.Т., Каримов Н.К.

*Ферганский филиал Ташкентской медицинской академии,
г. Фергана, Республика Узбекистан*

Несмотря на большое значение как энтомофагов фауна браконид целом в Узбекистане и частично в Ферганской долине достаточно не изучена. В имеющихся литературных источниках приводятся отрывочные данные о фауне браконид отдельных регионов республики, и то по отдельным культурам.

Учитывая изложенное выше, нами с 1976 года. проводятся сборы браконид с целью выявления их фауны на полях различных сельхозкультур хлопкового севооборота и в результате обнаружилось следующие 88 видов браконид, относящиеся к 25 родам из 13 подсемейств:

1. Doryctinae: *Rhaconotus scaber* Kok., *Hormius moniliatus* Nees, *H. tatianae* Tel., *Rhysipolis decorator* Hal.;

2. Rogadinae: *Rogas dimidiatus* Spin., *R. bicolor* Spin., *R. aestuosus* Reinh., *R. arnoldii* Thunb., *R. pallidator* Thunb., *R. schirjaevi* Kok., *R. rossicus* Kok., *Pseudovipio inceptor* Nees;

3. Braconinae: *Bracon* (*Habrobracon*) *hebetor* Say, *B. (H.) excisus* Tobias, *B. (H.) telengai* Tobias, *B. (H.) radialis* Tel., *B. (H.) variegator* Spin. *B. (Ophthalmobracon)*



ophthalmicus Tel. B. leptus Marsh. B. intercessor Nees B. pectoralis Wesm. B. osculator Nees B. subglaber Szepl. . longicollis Wesm B. meyeri Tel.;

4. Brachistinae: Triaspis obscurellus Nees;

5 Euphorinae: Blacus exilis Nees, B. errans Nees, Wesmaelia sp. W., pendula Forst., Perilitus rutilus Nees, Microctonus bicolor Wesm., M. brevicollis Hal., M. aethiops Ness, Leiophron picipes Curt;

6. Macrocentrinae: Macrocentrus collaris Spin.;

7. Homolobiinae: Homolobius truncator Say;

8. Orgilinae: Orgilus meyeri Tel.;

9. Agathidinae: Agathis montana Shest., Agathis sp.;

10. Acoeliinae: Acoelius erithronotus Foerster;

11. Cheloninae: Chelonus oculator Panz. Ch. corvulus Marsh., Ch. submuticus Wesm., Ch. asiaticus Tel. Microchelonus microsomus Tobias, M. rimatus Szepl.;

12. Microgasterinae: M. tuberculifer Wesm. M. tuberculifer Wesm., M. stigmatica Ratz. M. ochracea Szepl. M. vidua Ruthe, M. trochanterata Thoms. M. spectabilis Hal. M. spinolae Nees, Lissogaster hospes Mazsh., L. curvicrus Thoms., L. tibialis Nees, L. campestris Tobias, Choeras suffolciensis Morley, Apanteles plutellae Kurd., A. falcatus Nees, A. oculatus Tobias, A. glomeratus L., A. melitaeorum Wilk., A. lacteus Nees, A. telengai Tobias, A. turcmenicus Tobias, A. lacteoides Nixon. A. rostratus Tobias, A. rostratus Tobias, A. sp. aff. rostratus, A. balcanicus Balevskiy, A. kazak Tel., A. congestus Nees, A. metacarpalis Thoms., A. cajae Bouche, A. praepotens Hal., A. sp aff. thompsoni Lyle, A. rubripes Hal., A. rufilus Tobias, A. contortus Tobias, A. parasitellae Bouche;

13. Opiinae: Opius pallipes Wesm., O. gracilis Fi., O. maculipes Wesm., Synaldis districta Nees , S. gracilis Fi.

Анализ фауны отдельных агроценозов показало, что на хлопковых полях и их межах встречались 22 вида, на люцерновых полях 61 вид, на кукурузных – 19, на пшеничных всего 6 видов и на овощных – 32 вида браконид. Таким образом по обилию видов первые места занимают люцерновые и овощные поля, на третьем и последующих местах стоят хлопковые, кукурузные и пшеничные поля.

Сравнительно высокое видовое разнообразие браконид на люцерновых полях объясняется, в первую очередь, обилием здесь цветущих растений, нектаром которых могут питаться взрослые наездники, а также наличием различных вредителей-хозяев браконид.

Следует отметить, что подавляющее большинство видов встречались только на одном из изученных нами агроценозов. Только 2 вида (Bracon intercessor и B. leptus) найдены во всех агроценозах, 3 вида на 4-х, 3 вида на 3-х и 14 видов на 2 агроценозах.



Как видно из приведенного выше списка видов, наибольшее их количество (37 видов) относится к подсемейству Microgasterinae. Следующие места по количеству видов занимают подсемейства Braconinae, Euphorinae, Rogadinae, Cheloninae, Opiinae и Alysiinae (15, 9, 8 и 6 видов соответственно). Остальные подсемейства представлены всего 1-4 видами. Указанные подсемейства, особенно, первые 3 из них на самом деле являются самыми крупными подсемействами в сем. Braconidae и представители которых широко распространены по всей Палеарктике. Многие их виды экологически очень пластичны и встречаются в разнообразных биотопах. Именно среди них имеются наиболее эффективные как энтомофаги, виды.

Из изложенных выше видно, что фауна браконид основных агроценозов Узбекистана насчитывает 88 видов, которые распределены неравномерно по агроценозам, что зависит от их экологических условий.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ОСТРОЙ ДИАРЕЙНОЙ ИНФЕКЦИИ

Юлдашов Ж.А., Матрасулова Д.М.

*Ургенчский филиал Ташкентской медицинской академии,
г. Ургенч, Республика Узбекистан*

Цель исследования. Провести анализ реальной практики лабораторных исследований у больных острыми кишечными инфекциями.

Методы. Статистическая группировка.

Результаты. Проанализировано 129 историй болезни пациентов с доминирующим синдромом энтерита. У 127 (98,44%) больных заболевание имело вирусную природу и было обусловлено ротавирусной инфекцией или норовирусами, что было подтверждено результатами ИФА-исследования.

Диагностические микробиологические исследования кала выполнены однократно у 74 (57,36%), 2 раза – 38 (29,45%), 3 раза – 17 (13,17%). Контрольные посеы кала проводились однократно 79 пациентам (61,24%), двукратно – 4 (3,10%), не проводились – 44 (34,10%). Положительных контрольных посевов кала не зарегистрировано.

Макроскопически в кале слизь выявлена у 6 пациентов (4,65%), кровь также у 6 (4,65%), примеси отсутствовали у 109 пациентов (84,49%). В 8 (6,20%) историях болезни характер патологических примесей в стуле не описан. Копрологическое исследование проводилось всем больным. Микроскопически выявлены: эритроциты – 19 (14,72%), лейкоциты – 40 (31%), слизь – 43 (33,33), непереваренная пища – 92 (71,31%), отклонения от нормы отсутство-



вали в 20 случаях (15,50%). Посевы рвотных масс проводились 52 пациентам (40,31%), посевы крови – 92 (71,31%), посевы на иерсиниоз и псевдотуберкулез – в 4 случаях.

Заключение. Таким образом, при диагностике острых кишечных инфекций используются не только традиционные микробиологические исследования испражнений, позволяющие выявить бактериальных возбудителей, но и вирусологические тесты (на ротавирусы и норовирусы), а также исследования других биосубстанций – крови и рвотных масс.

КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТАФИЛОКОККОВОЙ КИШЕЧНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ

Юлдашов Ж.А., Нуруллаев Р.Р., Исмоилова Д.У.
*Ургенчский филиал Ташкентской медицинской академии,
г. Ургенч, Республика Узбекистан*

Стафилококковая инфекция характеризуется большим разнообразием клинических проявлений – от бессимптомного носительства и локализованных форм до тяжелых септических состояний. Одно из проявлений – кишечная инфекция стафилококковой этиологии.

Цель исследования. Изучить клинические особенности стафилококковой кишечной инфекции у детей.

Материалы и методы. Проанализировано 42 истории болезни детей с лабораторно подтвержденным диагнозом стафилококковой инфекции, которые находились на стационарном лечении в УЗ «Харезмская областная инфекционная клиническая больница» в 2014-2016 годах.

Результаты и обсуждение. По полу пациенты распределились следующим образом: мальчики – 22 чел. (52,4%), девочки – 20 чел. (47,6%). По возрасту преобладали дети первого года жизни – 47,6%, 1-6 лет – 28,6%, старше 6 лет – 23,8%. Среди детей первого года жизни 12 (60%) находились на искусственном вскармливании, 8 (40%) питались грудным молоком. В 78% случаев дети были госпитализированы в 1-3 день от начала заболевания, 22% детей госпитализированы позднее 3 дня болезни. Средняя продолжительность лечения составила $6,76 \pm 1,61$ койко-день. Все пациенты перенесли заболевание в среднетяжелой форме. У 13 детей (30,9%) зарегистрирована сопутствующая патология (ОРИ), у 11 детей (26%) – микст с ротавирусной инфекцией. У всех госпитализированных наблюдалось острое начало заболевания. При поступлении в стационар у всех детей (100%) были жалобы на жидкий стул и снижение аппетита, у 52% детей отмечалась рвота, причем у 40% многократная. Фебрильная лихорадка



наблюдалась у большинства пациентов: 38-38,9°C – 23 чел. (55%), выше 39°C – 8 чел. (19,0%), субфебрилитет у 11 человек (26%). Симптомы интоксикации сохранялись от 3 до 5 дней. Боли в животе отмечали 66,7% пациентов. Кишечный синдром проявлялся энтеритным стулом без патологических примесей в 31% случаев, у 50% детей наблюдался энтероколит с примесью слизи в стуле, а у 19% – гемоколит. Продолжительность диареи у большинства детей от 5 до 7 дней, частота стула в среднем 6-8 раз в сутки, жидкий характер стула отмечался в 83,8% случаев и лишь у семи детей (16,7%) – кашицеобразный. Диагноз острого энтерита выставлен в 9% случаев, гастроэнтерита – 22%, гастроэнтероколита – 30%, энтероколита – 39% случаев. В анализах крови анемия легкой степени наблюдалась у 38,6% детей, нейтрофильный лейкоцитоз – у 53,3%, ускоренная СОЭ – у 47,6%. Изменений в биохимическом анализе крови и ОАМ выявлено не было, за исключением ацетонурии – в 23,8% случаев и умеренной преходящей лейкоцитурии – 34,7%. Диагноз подтвержден бактериологически выделением из кала золотистого стафилококка и серологически реакцией аутоагглютинации с выделенной культурой.

Заключение. Таким образом, стафилококковая кишечная инфекция чаще встречается у детей до 6 лет. Анализ клинических данных показывает более тяжелое течение заболевания у детей первого года жизни с преимущественным поражением толстого кишечника, у старших детей заболевание протекало по типу диспепсии или пищевой токсикоинфекции.



АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

А			
Абдувалиева Ф.Т.	237	Бокарев М.А.	13, 39, 57, 151, 186, 191, 192
Адиятуллин И.И.	199	Болехан В.Н.	119, 136, 202
Азаров И.И.	36	Борзунов В.М.	18
Акжигитов А.С.	27	Борисенко Н.В.	220
Алешкин В.А.	171, 173, 175	Борисова О.Ю.	154
Алиев К.Т.	120	Боронина Л.Г.	18
Алимова Д.И.	87	Булгакова А.И.	228
Алхасова Г.К.	110	Бунтовская А.С.	119, 202
Амелина Е.А.	196	Бунятян Н.Д.	165
Аминев Р.М.	112, 142, 145, 146, 148	Бургасова О.А.	167
Андреев В.А.	7, 142, 145	Быстрова О.В.	126
Аношина А.В.	170		
Арипова Д.Р.	241	В	
Арсеньева В.А.	196	Васипов В.В.	169
Артебякин С.В.	112	Ватина А.В.	87
Астанина А.К.	119, 209	Велиханов Ф.Т.	120
Астапенко П.В.	130	Ветлужских А.А.	121, 123, 157, 159, 161, 222
Афанасьев С.С.	171, 173, 175	Ветчинин С.С.	92
Ахмедова Р.С.	114, 205	Викторов Д.А.	124
Ашурова М.Д.	246	Вильянинов В.Н.	116, 117, 230
		Власов А.А.	126
		Власов Д.Ю.	79
		Волков И.И.	127, 130, 132
		Ворошилова Т.М.	224
Б			
Базарнова Ю.Г.	140	Г	
Байракова А.Л.	175	Гончаров А.Е.	79
Баранцевич Е.П.	162	Горбунов Г.А.	79
Баранцевич Н.Е.	162	Горелова В.Г.	134
Бахилина Н.В.	198	Горенчук А.Н.	142, 145, 146, 148
Белов А.Б.	9, 79	Горобец Д.В.	223
Белозеров Е.С.	117	Гребенюк А.Н.	36
Бельгесов Н.В.	116, 117, 230		
Беспалова Г.И.	167		
Бижбалова Л.О.	226		
Бикетов С.Ф.	92		
Бисенова Н.М.	292		



Гриневич В.Б.	126
Гунар О.В.	21
Гуреева Е.С.	203
Гусев Д.А.	136

Д

Дворак С.И.	136
Дворецкая Е.А.	62
Демидов Д.М.	119
Джаруллаева А.Ш.	203
Дрозд М.С.	138
Дубаневич О.В.	264

Е

Еденюк Е.А.	154
Елисеева М.И.	209
Ергалиева А.С.	292
Есавкина А.В.	87
Есютина Е.И.	224

Ж

Жилинская Н.Т.	140
Жоголев Д.К.	145, 146
Жоголев К.Д.	142, 145, 146, 148
Жоголев С.Д.	142, 145, 146, 148
Журавская Н.П.	124
Журкин М.А.	142, 145, 146, 148

З

Змеева Т.А.	39, 48, 53, 57, 150, 151, 185, 186, 189, 191, 192
-------------	--

И

Иванова С.С.	199
Иванов И.А.	119, 202
Изагулина А.Р.	153
Инчина В.И.	87
Исаева Р.И.	110
Исмоилава Д.У.	293, 305

К

Калеко С.П.	117, 230
Канарский А.В.	169
Каргальцева Н.М.	154
Каримов И.Ф.	27
Каримов Н.К.	302
Карцев В.В.	232
Кафтырева Л.А.	155, 216
Кашутин А.Н.	62
Клецко Л.И.	57, 142, 145, 148, 189, 191
Князев М.Ю.	157, 159, 161
Кобылкин Д.В.	112
Козлова Н.С.	162
Козловская Г.В.	163
Козловский Ю.Е.	163
Кондратенко О.В.	124
Конев В.В.	36
Кононова С.В.	57
Королюк А.М.	164
Косильникова А.С.	200
Косырева А.М.	163
Котляр М.А.	198
Котов С.С.	142, 145, 146, 148, 150
Кочеровец В.И.	154, 165
Краева Л.А.	79, 167
Крамаренко С.Ю.	130
Криворучко А.Б.	220



Кручина-Богданов И.В.	169	Меджидова Х.М.	62
Кузнецов С.М.	13	Минаев А.В.	76
Кузьмина М.А.	153	Миралимова Ш.М.	298
Кулешова А.В.	62	Мирсаяпова И.А.	199
Куликов Е.В.	215	Мокрова Е.В.	162
Кунилова Е.С.	167	Моллаева А.М.	205
Курская О.Г.	170	Москалев А.В.	67, 200
Кутлиева Г.Д.	294, 298	Муслимов М.О.	114

Л

Ланцов Е.В.	112, 223
Лахно Т.И.	18
Лахтин В.М.	171, 173, 175
Лахтин М.В.	171, 173, 175
Лашинский С.В.	178, 180, 182
Левкович А.Д.	264
Леонова Н.В.	170
Логунов Д.Ю.	203
Ломако Ю.В.	264
Луцык М.А.	36
Лыскова Н.С.	169

М

Мавзютов А.Р.	228
Малкова И.В.	116, 117
Мальшева З.В.	138
Мальшев В.В.	13, 39, 48, 53, 57, 62, 150, 151, 153, 157, 159, 161, 185, 186, 189, 191, 192, 195
Марданлы С.Г.	196
Марданлы С.С.	196, 198
Мартынова Д.В.	138
Матвеева З.Н.	211
Матрасулова Д.М.	272, 285, 304
Махамбетов К.О.	292
Меджидова А.Ш.	134

Н

Нагибович О.А.	119, 202, 209
Нарольская Д.П.	7
Небредовский В.Н.	178, 180, 182
Никитенко Н.А.	203
Никитин А.Г.	124
Николаев А.М.	153
Новиков М.С.	203
Носкова Т.В.	39, 48, 186
Нуруллаев Р.Р.	293, 305

О

Огай Д.К.	294, 298
Огарков П.И.	146
Одегова Н.В.	232
Омарова С.М.	110, 114, 134, 205
Орлова Е.С.	233
Осипов Г.А.	126
Островерхова Д.С.	207
Островский А.М.	252

П

Панин А.Л.	9, 76, 79, 167
Панферцев Е.А.	92
Пелешок С.А.	119, 202, 209
Пеньковская Н.А.	192, 195



Перельгин В.В.	189, 191	Семенова Е.В.	87
Перервенко О.В.	62	Семечкин Н.В.	213
Петрова И.С.	167	Сидельникова О.П.	220
Политаева Н.А.	140	Сидоров Д.А.	36
Пономаренко Е.А.	163	Силаенкова М.М.	163
Порин А.А.	211	Симаков В.В.	132
Потапов В.В.	62	Скрипай Л.А.	116, 117, 230
Прасолов В.С.	203	Соболев И.А.	170
Протасов О.В.	119, 202, 209	Солдатов Е.А.	132
Проценко А.Н.	48, 220	Соловьёва А.В.	264
Прошина Л.А.	57, 189, 191	Сохибназарова Х.А.	298
Пулатов Н.Н.	285	Суборова Т.Н.	136, 218, 220
Пустовалова Е.Г.	138	Султонов Г.Н.	282
		Суменова Д.К.	7

Р

Райимов А.Х.	296
Расулова М.Т.	296
Рейнюк В.Л.	132
Репина Е.А.	87
Романенко С.М.	117, 230
Романов В.А.	213
Ротанов С.В.	198
Рубова С.Р.	145
Рябиченко Т.И.	170

Т

Талгатбекова Н.Т.	292
Тамарова Э.Р.	228
Телятников М.А.	121, 123, 222
Тешебаев Ш.Б.	79
Титова М.В.	202, 209
Тихменева И.Б.	116, 117
Тороповский А.Н.	124
Тренина Я.Н.	223
Тяпша Ю.И.	264

С

Саликова С.П.	126
Сапронова Е.В.	154
Саранцева Н.Д.	67
Сачивкина Н.П.	215
Сбойчаков В.Б.	4, 7, 39, 48, 79, 142, 145, 146, 148, 150, 185, 216
Свистунов С.А.	220
Седых А.Д.	76
Семена А.В.	53
Семенов А.В.	87

У

Удальцов О.Е.	142, 146, 148
Уланова Т.В.	87
Улюкин И.М.	233

Ф

Файзулина А.Р.	199
Филиппова Ю.Н.	224
Франк-Каменецакая О.В.	153



Х		Щ	
Хакимова Л.Р.	199, 226	Щеглова И.В.	116, 117, 230
Харитонов М.А.	145	Щедрина Н.А.	232
Харченко Е.П.	227	Щербак Н.Я.	233
Хохлова Ю.В.	124		
Ц		Э	
Цжен М.	170	Эгамбердиев К.К.	272
		Эргашев Р.Н.	237
Ч		Ю	
Читакова А.Э.	195	Юлдашева М.Т.	302
Чмелёв С.А.	18	Юлдашев Э.Ю.	282, 302
		Юлдашов Ж.А.	272, 285, 293, 304, 305
Ш		Юрина Н.А.	101
Шамсутдинова Л.Р.	226	Юрин Д.А.	101
Швец К.Ю.	228		
Шевелева В.С.	202		
Шевяков А.Г.	92		
Шепелин А.П.	94		
Шерматов Р.М.	282, 300		
Шлейкин А.Г.	140		



СОДЕРЖАНИЕ

СТАТЬИ

В.М. АРИСТОВСКИЙ – ВЫДАЮЩИЙСЯ УЧЕНЫЙ ПЕРВОЙ ПОЛОВИНЫ XX ВЕКА Сбойчаков В.Б.....	4
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПЛАЗМЫ КРОВИ, НАПОЛНЕННОЙ ЛЕЙКОЦИТАМИ И ТРОМБОЦИТАМИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГНОЙНЫХ РАН Андреев В.А., Сбойчаков В.Б., Нарольская Д.П., Суменова Д.К.....	7
САПРОНОЗЫ: ЭКОЛОГИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ, ЭПИДЕМИОЛОГИЯ, ИННОВАЦИИ В ТЕРМИНОЛОГИИ И СИСТЕМАТИЗАЦИИ ИНФЕКЦИЙ Белов А.Б., Панин А.Л.....	9
ПРОБЛЕМНЫЕ ВОПРОСЫ САНИТАРНОЙ ОЦЕНКИ ЭПИДЕМИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ВОДЫ ХОЗЯЙСТВЕННО-ПИТЬЕВОГО ВОДОСНАБЖЕНИЯ Бокарев М.А., Малышев В.В., Кузнецов С.М.....	13
АКТИВАЦИЯ ОЧАГОВ ТУЛЯРЕМИИ В УРАЛЬСКОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ Боронина Л.Г., Лахно Т.И., Борзунов В.М., Чмелёв С.А.....	18
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ КАЧЕСТВО ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И ДОКАЗАТЕЛЬСТВО ПРИМЕНИМОСТИ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДИК Гунар О.В.....	21
СПЕКТР АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ШТАММОВ ПРИ ИНФЕКЦИЯХ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ Каримов И.Ф., Акжигитов А.С.....	27



ИНДИКАЦИЯ ПРИ ОБЕСПЕЧЕНИИ ХИМИЧЕСКОЙ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ Конев В.В., Сидоров Д.А., Гребенюк А.Н., Луцык М.А., Азаров И.И.....	36
ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБНОЙ КОНТАМИНАЦИИ АКВАТОРИЙ НЕВСКОЙ ГУБЫ И КОМПЛЕКСА ЗАЩИТНЫХ СООРУЖЕНИЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА ОТ НАВОДНЕНИЙ. РЕТРОСПЕКТИВНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ Мальшев В.В., Змеева Т.А., Сбойчаков В.Б., Бокарев М.А., Носкова Т.В.....	39
К ВОПРОСУ О ЦИРКУЛЯЦИИ КИШЕЧНЫХ ВИРУСОВ СРЕДИ ДЕТСКОГО НАСЕЛЕНИЯ РОССИИ Мальшев В.В., Змеева Т.А., Сбойчаков В.Б., Носкова Т.В., Проценко А.Н.....	48
АКТУАЛЬНЫЕ ВИРУСНЫЕ КИШЕЧНЫЕ АНТРОПОНОЗЫ И ВИРУСНЫЙ ГЕПАТИТ А (ЭТИОЛОГИЯ И КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА) Мальшев В.В., Змеева Т.А., Семена А.В.....	53
ИННОВАЦИИ В МЕМБРАННЫХ ТЕХНОЛОГИЯХ В МЕДИЦИНЕ, ФАРМАЦИИ И ЭКОЛОГИИ Мальшев В.В., Змеева Т.А., Клецко Л.И., Прошина Л.А., Бокарев М.А., Кононова С.В.....	57
ЭКСПРЕСС-МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ <i>KLEBSIELLAE PNEUMONIAE</i> Меджидова Х.М., Кашутин А.Н., Потапов В.В., Перервенко О.В., Дворецкая Е.А., Кулешова А.В., Мальшев В.В.....	62
РОЛЬ ПОПУЛЯЦИЙ Т- И В-ЛИМФОЦИТОВ В ИММУНОПАТОГЕНЕЗЕ АТЕРОСКЛЕРОЗА Москалев А.В., Саранцева Н.Д.....	67
РОЛЬ ЖЕЛЕЗА В ПАТОГЕНЕЗЕ И ПРОФИЛАКТИКЕ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ Панин А.Л., Минаев А.В., Седых А.Д.....	76



ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ЗА САПРОНОЗАМИ В АРКТИКЕ И АНТАРКТИКЕ Панин А.Л., Белов А.Б., Сбойчаков В.Б., Гончаров А.Е., Тешебаев Ш.Б., Горбунов Г.А., Краева Л.А., Власов Д.Ю.....	79
АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 6,7-ДИАЗАСПИРО[3.4]ОКТАНДИОНА-5,8 Семенова Е.В., Семенов А.В., Инчина В.И., Репина Е.А., Уланова Т.В., Алимова Д.И., Ватина А.В., Есавкина А.В.....	87
ДНК-ИММУНИЗАЦИЯ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ К БЕЛКУ NS1 ВИРУСА ЗИКА Шевяков А.Г., Панферцев Е.А., Ветчинин С.С., Бикетов С.Ф.....	92
СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И НАПРАВЛЕНИЯ РАЗВИТИЯ ПРОИЗВОДСТВА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД В РОССИИ Шепелин А.П.....	94
БИОПРЕПАРАТЫ КАК СТИМУЛЯТОРЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ИММУНИТЕТА Юрина Н.А., Юрин Д.А.....	101
ТЕЗИСЫ	
МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ СТАФИЛОКОККОВ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВЫДЕЛЕННЫХ КУЛЬТУР Алхасова Г.К., Омарова С.М., Исаева Р.И.....	110
ОСНАЩЕНИЕ ПОДВИЖНЫХ САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМИ РАСХОДНЫМИ МАТЕРИАЛАМИ Аминев Р.М., Ланцов Е.В., Артебякин С.В., Кобылкин Д.В.....	112
ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕТОДОВ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ХЛАМИДИЙНЫХ ЦЕРВИЦИТОВ Ахмедова Р.С., Омарова С.М., Муслимов М.О.....	114



ПРОБЛЕМА ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В ВОЕННОЙ МЕДИЦИНЕ Бельгесов Н.В., Вильянинов В.Н., Скрипай Л.А., Тихменева И.Б., Малкова И.В., Щеглова И.В.	116
ИНФЕКЦИОННАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ ГЕМОТРАНСФУЗИОННОЙ ТЕРАПИИ Бельгесов Н.В., Вильянинов В.Н., Тихменева И.Б., Малкова И.В., Белозеров Е.С., Калеко С.П., Романенко С.М., Скрипай Л.А., Щеглова И.В.	117
ПРОБЛЕМА БИОПЛЕНОК В МЕДИЦИНЕ Бунтовская А.С., Нагибович О.А., Пелешок С.А., Болахан В.Н., Протасов О.В., Астанина А.К., Демидов Д.М., Иванов И.А.	119
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ИШЕМИИ СПИННОГО МОЗГА У КРЫС Велиханов Ф.Т., Алиев К.Т.	120
ОПЫТ ОРГАНИЗАЦИИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ВОЕННЫХ ГАРНИЗОНАХ, ДИСЛОЦИРОВАННЫХ В ПУСТЫНЕ ГОБИ (МОНГОЛИЯ) В ПЕРИОД С 1974 ПО 1989 ГГ. Ветлужских А.А., Телятников М.А.	121
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВОДЫ ПРИ РАЗМЕЩЕНИИ ЧАСТЕЙ И ВОИНСКИХ ПОДРАЗДЕЛЕНИЙ ВС СССР НА ТЕРРИТОРИИ МОНГОЛИИ Ветлужских А.А., Телятников М.А.	123
РАЗРАБОТКА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ РАННЕГО ВЫЯВЛЕНИЯ БАКТЕРИЙ BURKHOLDERIA CEPACIA COMPLEX В МОКРОТЕ БОЛЬНЫХ МУКОВИСЦИДОЗОМ Викторов Д.А., Тороповский А.Н., Никитин А.Г., Кондратенко О.В., Хохлова Ю.В., Журавская Н.П.	124



ВЗАИМОСВЯЗЬ УРОВНЯ ЭНДОТОКСИНА В КРОВИ И ТЯЖЕСТИ СОСТОЯНИЯ СТАЦИОНАРНЫХ ПАЦИЕНТОВ С ДЕКОМПЕНСАЦИЕЙ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ Власов А.А., Гриневич В.Б., Саликова С.П., Быстрова О.В., Осипов Г.А.....	126
ИНДИКАЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДСТВ НА ОСТРОВЕ МАТУА Волков И.И.....	127
ИСПЫТАНИЯ «ЖИВУЧЕСТИ» НОВОГО СРЕДСТВА ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ ПРОИЗВОДСТВА «LAMSISYSTEMS» Г. МИАЗ ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ Волков И.И., Астапенко П.В., Крамаренко С.Ю.....	130
РАБОТА ПОДВИЖНОЙ САНИТАРНО- ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ ГРУППЫ НА ОСТРОВЕ МАТУА Волков И.И., Симаков В.В., Рейнюк В.Л., Солдатов Е.А.....	132
УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ СЕПСИСА Горелова В.Г., Омарова С.М., Меджидова А.Ш.....	134
СПЕКТР ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОГО СТАЦИОНАРА Дворак С.И., Гусев Д.А., Суборова Т.Н., Болехан В.Н.....	136
СПОСОБ РАЗРАБОТКИ ПРОТИВОВИРУСНОЙ СУБСТАНЦИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГЕПАТИТА С Дрозд М.С., Мартынова Д.В., Малышева З.В., Пустовалова Е.Г.....	138
ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДОВ БИОИНФОРМАТИКИ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИМИКОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ Жилинская Н.Т., Базарнова Ю.Г., Политаева Н.А., Шлейкин А.Г.....	140



ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ БАКТЕРИЦИДНЫХ РЕЦИРКУЛЯТОРОВ ВОЗДУХА В СПАЛЬНЫХ ПОМЕЩЕНИЯХ КАЗАРМ Жоголев К.Д., Горенчук А.Н., Жоголев С.Д., Аминев Р.М., Сбойчаков В.Б., Андреев В.А., Клецко Л.И., Журкин М.А., Котов С.С., Удальцов О.Е.....	142
ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ПНЕВМОНИЙ У ВОЕННОСЛУЖАЩИХ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИМ, МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИМ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ Жоголев К.Д., Сбойчаков В.Б., Жоголев С.Д., Журкин М.А., Рубова С.Р., Харитонов М.А., Аминев Р.М., Клецко Л.И., Андреев В.А., Жоголев Д.К., Котов С.С., Горенчук А.Н.....	145
АНАЛИЗ МНОГОЛЕТНЕЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ВНЕБОЛЬНИЧНЫМИ ПНЕВМОНИЯМИ ВОЕННОСЛУЖАЩИХ ПО ПРИЗЫВУ Жоголев С.Д., Аминев Р.М., Огарков П.И., Жоголев К.Д., Сбойчаков В.Б., Журкин М.А., Жоголев Д.К., Горенчук А.Н., Котов С.С., Удальцов О.Е.....	146
АПРОБАЦИЯ 13-ВАЛЕНТНОЙ ПНЕВМОКОККОВОЙ КОНЪЮГИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ У ВОЕННОСЛУЖАЩИХ Жоголев С.Д., Жоголев К.Д., Аминев Р.М., Сбойчаков В.Б., Клецко Л.И., Котов С.С., Горенчук А.Н., Журкин М.А., Удальцов О.Е.....	148
ПОРИСТЫЕ МИКРОФИЛЬТРАЦИОННЫЕ МЕМБРАНЫ И БЫСТРЫЕ ТЕСТЫ В САНИТАРНО-ВИРУСОЛОГИЧЕСКОМ КОНТРОЛЕ ВОДЫ Змеева Т.А., Малышев В.В., Сбойчаков В.Б., Котов С.С.....	150
ПРИМЕНЕНИЕ ИННОВАЦИОННЫХ МЕМБРАННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ И САНИТАРНО-ВИРУСОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ Змеева Т.А., Малышев В.В., Бокарев М.А.....	151



ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВОГО ВЕЩЕСТВА И БАКТЕРИЙ НА ОБРАЗОВАНИЕ МОЧЕВЫХ КАМНЕЙ Изагулина А.Р., Николаев А.М., Франк-Каменецкая О.В., Кузьмина М.А., Малышев В.В.....	153
РЕЗУЛЬТАТЫ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПАТЕНТА ПОЛУЧЕНИЯ ГЕМОКУЛЬТУР ПРИ ДИАГНОСТИКЕ ИНФЕКЦИИ КРОВотоКА Каргальцева Н.М., Кочеровец В.И., Борисова О.Ю., Сапронова Е.В., Еденюк Е.А.....	154
РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ С ПОЗИЦИЙ БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ Кафтырева Л.А.....	155
РОЛЬ АНАЛИЗА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ ПРИ ОБОСНОВАНИИ ФИНАНСИРОВАНИЯ ИХ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ПРОФИЛАКТИКИ Князев М.Ю., Малышев В.В., Ветлужских А.А.....	157
СОВРЕМЕННАЯ ЭТИОЛОГИЯ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ И ОБОСНОВАНИЕ ИХ ПРОФИЛАКТИКИ В НИЖЕГОРОДСКОМ ГАРНИЗОНЕ. РОЛЬ «АУТСЕРСИНГОВЫХ» КОМПАНИЙ Князев М.Ю., Малышев В.В., Ветлужских А.А.....	159
НЕКОТОРЫЕ ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПРОФИЛАКТИКЕ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ В ВС РФ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ АНАЛИЗА ИХ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ В НИЖЕГОРОДСКОМ ВОЕННОМ ГАРНИЗОНЕ Князев М.Ю., Малышев В.В., Ветлужских А.А.....	161
АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ НЕФЕРМЕНТИРУЮЩИХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ В МНОГОПРОФИЛЬНОМ СТАЦИОНАРЕ Козлова Н.С., Мокрова Е.В., Баранцевич Е.П., Баранцевич Н.Е.....	162



ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ИНДИГЕННОГО ШТАММА E. COLI EV НА СОСТАВ НОРМАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА И ИММУННУЮ СИСТЕМУ Козловская Г.В., Козловский Ю.Е., Силаенкова М.М., Пономаренко Е.А., Косырева А.М.....	163
ДИСКУССИОННЫЕ АСПЕКТЫ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ Королук А.М.....	164
СОВРЕМЕННЫЕ ФТОРХИНОЛОНЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ Кочеровец В.И., Бунятян Н.Д.....	165
ИННОВАЦИОННЫЕ ПОДХОДЫ ПРИ ОЦЕНКЕ ВИРУЛЕНТНОСТИ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ Краева Л.А., Кунилова Е.С., Петрова И.С., Бургасова О.А., Панин А.Л., Беспалова Г.И.....	167
ВИДОВАЯ ДИАГНОСТИКА ПРОМЫШЛЕННЫХ ДРОЖЖЕВЫХ КУЛЬТУР ПО СОСТАВУ ЖИРНЫХ КИСЛОТ КЛЕТОЧНОЙ ОБОЛОЧКИ Кручина-Богданов И.В., Лыскова Н.С., Васипов В.В., Канарский А.В.....	169
ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ У ДЕТСКОГО НАСЕЛЕНИЯ Г. НОВОСИБИРСКА Курская О.Г., Соболев И.А., Цжен М., Аношина А.В., Леонова Н.В., Рябиченко Т.И.....	170
ОСНОВАННАЯ НА РАСПОЗНАВАНИИ ГЛИКОКОНЪЮГАТОВ СТРАТЕГИЯ ВЫБОРА КУЛЬТУР КЛЕТОК ЗАЩИТНОГО РЯДА, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХСЯ НАПРАВЛЕННЫМИ НА МИШЕНИ ЛЕКТИНОВЫМИ СИСТЕМАМИ Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А.....	171



ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ПРОБИОТИЧЕСКИЕ ИСТОЧНИКИ ЛЕКТИНОВ: РАЗНООБРАЗИЕ ЛЕКТИНОВЫХ СИСТЕМ РАСПОЗНАВАНИЯ МУЦИН-ПОДОБНЫХ ГЛИКОКОНЪЮГАТОВ Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А.....	173
ЛЕКТИНЫ ПРОБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ ЧЕЛОВЕКА ПРОТИВ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ КАНДИД ПАЦИЕНТОВ Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Байракова А.Л., Алешкин В.А.....	175
ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА НОРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ Лашинский С.В., Небредовский В.Н.....	178
ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ НОРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ Лашинский С.В., Небредовский В.Н.....	180
МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ НОРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ Лашинский С.В., Небредовский В.Н.....	182
ИННОВАЦИИ В ПОЛЕВОЙ МИКРОБИОЛОГИИ В РЕШЕНИИ ПРОБЛЕМ ЛИКВИДАЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ ЧРЕЗВЫЧАЙНЫХ СИТУАЦИЙ И В ВОЕННОЙ МЕДИЦИНЕ Мальшев В.В., Змеева Т.А., Сбойчаков В.Б.....	185
ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ФИЛЬТРАЦИИ ВОДЫ И БАРЬЕРНАЯ РОЛЬ БЫТОВЫХ ФИЛЬТРОВ ДЛЯ БЕЗОПАСНОГО ВОДОПОЛЬЗОВАНИЯ НАСЕЛЕНИЯ Мальшев В.В., Змеева Т.А., Бокарев М.А., Носкова Т.В.....	186
МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДЕТЕКЦИИ МИКРОБНЫХ И ВИРУСНЫХ КОНТАМИНАНТОВ ВОДЫ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ МОНИТОРИНГОВЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В АКВАТОРИИ НЕВСКОЙ ГУБЫ Мальшев В.В., Змеева Т.А., Перелыгин В.В., Клецко Л.И., Прошина Л.А.....	189



СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭЛЮАТОВ ВОДЫ НА МАРКЕРЫ ВИРУСНОЙ КОНТАМИНАЦИИ Мальшев В.В., Змеева Т.А., Перельгин В.В., Клецко Л.И., Прошина Л.А., Бокарев М.А.	191
ИННОВАЦИОННЫЕ ПОДХОДЫ К САНИТАРНО-ВИРУСОЛОГИЧЕСКОМУ КОНТРОЛЮ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ И ГАРМОНИЗАЦИЯ ЕГО С МЕЖДУНАРОДНЫМИ ТРЕБОВАНИЯМИ Мальшев В.В., Змеева Т.А., Бокарев М.А., Пеньковская Н.А.	192
ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА, КЛИНИКО- ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ У ДЕТЕЙ В КРЫМУ Мальшев В.В., Читакова А.Э., Пеньковская Н.А.	195
РАЗРАБОТКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОДНОВРЕМЕННОГО ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К ОСНОВНЫМ ВОЗБУДИТЕЛЯМ TORCH-ИНФЕКЦИЙ В ФОРМАТЕ ЛИНЕЙНОГО ИММУНОБЛОТТИНГА Марданлы С.Г., Арсеньева В.А., Амелина Е.А., Марданлы С.С.	196
ОРГАНИЗАЦИЯ ПРОИЗВОДСТВЕННОГО ВЫПУСКА ДЕФИБРИНИРОВАННОЙ КРОВИ БАРАНА ДЛЯ ОБОГАЩЕНИЯ ПИТАТЕЛЬНЫХ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕД Марданлы С.С., Бахилина Н.В., Котляр М.А., Ротанов С.В.	198
ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ MORAXELLA CATARRHALIS И PSEUDOMONAS AERUGINOSA ПРИ ОСЛОЖНЕННЫХ ФОРМАХ ЛЕГОЧНОЙ ПАТОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА Мирсаяпова И.А., Хакимова Л.Р., Адиятуллин И.И., Файзуллина А.Р., Иванова С.С.	199
ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО ГОМЕОСТАЗА ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ Москалев А.В., Косильникова А.С.	200



МИКРОБНЫЙ СОСТАВ БИОПЛЕНОВ РАН Нагибович О.А., Бунтовская А.С., Иванов И.А., Пелешок С.А., Болахан В.Н., Протасов О.В., Шевелева В.С., Титова М.В.....	202
ИССЛЕДОВАНИЕ ИНГИБИТОРНЫХ СВОЙСТВ 5-АМИНО ПРОИЗВОДНЫХ УРАЦИЛА В ОТНОШЕНИИ АДЕНОВИРУСОВ ЧЕЛОВЕКА Никитенко Н.А., Гуреева Е.С., Джаруллаева А.Ш., Прасолов В.С., Новиков М.С., Логунов Д.Ю.....	203
МОНИТОРИНГ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ НЕФЕРМЕНТИРУЮЩИХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ В АКУШЕРСКОМ СТАЦИОНАРЕ Омарова С.М., Моллаева А.М., Ахмедова Р.С.....	205
СОЗДАНИЕ 3D МОДЕЛИ БЕЛКА NS3 ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА Островерхова Д.С.....	207
ОСНОВЫ ТРЕХМЕРНОЙ БИОПЕЧАТИ Пелешок С.А., Протасов О.В., Нагибович О.А., Титова М.В., Астанина А.К., Елисеева М.И.....	209
ВЫДЕЛЕНИЕ КАМПИЛОБАКТЕРОВ. СЕЛЕКТИВНЫЕ СРЕДЫ ИЛИ МЕМБРАНЫ? Порин А.А., Матвеева З.Н.....	211
ИММУННЫЙ СТАТУС У БОЛЬНЫХ ПЕРИТОНИТАМИ Романов В.А., Семечкин Н.В.....	213
УСТОЙЧИВОСТЬ К ПРОТИВОГРИБКОВЫМ ПРЕПАРАТАМ КАНДИД ОТ СОБАК Сачивкина Н.П., Куликов Е.В.....	215
СОВРЕМЕННЫЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА БРЮШНОГО ТИФА Сбойчаков В.Б., Кафтырева Л.А.....	216



УСТОЙЧИВОСТЬ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ К КАРБАПЕНЕМАМ: МЕХАНИЗМЫ И СПОСОБЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ Суборова Т.Н.....	218
ВОЗБУДИТЕЛИ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ПАЦИЕНТОВ С ТЯЖЕЛЫМИ РАНЕНИЯМИ И ТРАВМАМИ Суборова Т.Н., Сидельникова О.П., Борисенко Н.В., Проценко А.Н., Криворучко А.Б., Свистунов С.А.....	220
СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ (АППАРАТЫ) ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ВОЙСКОВОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ РАЗВЕДКИ (ПО РЕЗУЛЬТАТАМ АНАЛИЗА ЗАРУБЕЖНЫХ ИСТОЧНИКОВ) Телятников М.А., Ветлужских А.А.....	222
РАСШИФРОВКА БИОЛОГИЧЕСКИХ ПАТОГЕННЫХ АГЕНТОВ В УСЛОВИЯХ ЧРЕЗВЫЧАЙНЫХ СИТУАЦИЙ Тренина Я.Н., Ланцов Е.В., Горобец Д.В.....	223
ПРИМЕНЕНИЕ ПЦР И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ВАГИНАЛЬНОГО ОТДЕЛЯЕМОГО ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ВЛАГАЛИЩА У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА Филиппова Ю.Н., Ворошилова Т.М., Есютина Е.И.....	224
ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ ФРАГМЕНТОВ ГЕНОВ «ОСТРОВОВ» ПАТОГЕННОСТИ УСЛОВНОПАТОГЕННЫХ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ ПРИ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ Хакимова Л.Р., Шамсутдинова Л.Р., Бижбалова Л.О.....	226
ВИРОМ ЧЕЛОВЕКА: РАЗНООБРАЗИЕ, ИЗМЕНЧИВОСТЬ И КОНСЕРВАТИВНОСТЬ Харченко Е.П.....	227
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБИОЦЕНОЗА ПАРОДОНТАЛЬНЫХ КАРМАНОВ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ, АССОЦИИРОВАННОМ С КРАСНЫМ ПЛОСКИМ ЛИШАЕМ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА Швец К.Ю., Тамарова Э.Р., Булгакова А.И., Мавзютов А.Р.....	228



МОНОИММУННАЯ ПЛАЗМА – ОДИН ИЗ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ С ИНФЕКЦИОННЫМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ Щеглова И.В., Вильянинов В.Н., Романенко С.М., Бельгесов Н.В., Скрипай Л.А., Калеко С.П.....	230
НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ ПОВЫШЕНИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ СТАБИЛЬНОСТИ ПРОДОВОЛЬСТВЕННОГО СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ НА ОСНОВЕ РЫБЫ И НЕРЫБНЫХ ОБЪЕКТОВ ПРОМЫСЛА Щедрина Н.А., Одегова Н.В., Карцев В.В.....	232
ГЕМОКОНТАКТНЫЕ ИНФЕКЦИИ НА ФОНЕ ПСИХИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ В УСЛОВИЯХ МЕГАПОЛИСА Щербак Н.Я., Улюкин И.М., Орлова Е.С.....	233
СТАТЬИ ВСЕРОССИЙСКОГО НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОГО ОБЩЕСТВА ЭПИДЕМИОЛОГОВ, МИКРОБИОЛОГОВ И ПАЗАРИТОЛОГОВ	
РОЛЬ АВТОМОБИЛЬНОГО ТОПЛИВА В ЗАГРЯЗНЕНИИ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА Абдувалиева Ф.Т., Эргашев Р.Н.....	237
КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ИММУНОКОРРЕГИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ ПРИ РЕЦИДИВИРУЮЩИХ БРОНХИТАХ У ДЕТЕЙ Арипова Д.Р.....	241
ФАКТОРЫ РИСКА И ЗДОРОВЬЕ РАБОТАЮЩИХ АЗОТНЫХ МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ Ашурова М.Д.....	246
ОСНОВНЫЕ ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИЗУЧЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ И ПЕРЕНОСЧИКОВ ТРАНСМИССИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ Островский А.М.....	252



ВЫЯВЛЕНИЕ ЭНТЕРОТОКСИГЕННЫХ ШТАММОВ ESCHERICHIA COLI МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ Тяпша Ю.И., Ломако Ю.В., Дубаневич О.В., Соловьёва А.В., Левкович А.Д.....	264
ХРОНИЧЕСКАЯ НСV-ИНФЕКЦИЯ И ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ Эгамбердиев К.К., Юлдашов Ж.А., Матрасулова Д.М.....	272
ВИДЫ БРАКОНИД РОДА ROGAS NESS (HYMENOPTERA, BRACONIDAE) УЗБЕКИСТАНА И ЗНАЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ИЗ НИХ КАК ЭНТОМОФАГОВ Юлдашев Э.Ю., Шерматов Р.М., Султонов Г.Н.....	282
ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТОКСИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕЧЕНИ Юлдашов Ж.А., Матрасулова Д.М., Пулатов Н.Н.....	285
ТЕЗИСЫ ВСЕРОССИЙСКОГО НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОГО ОБЩЕСТВА ЭПИДЕМИОЛОГОВ, МИКРОБИОЛОГОВ И ПАРАЗИТОЛОГОВ	
КОРРЕКЦИЯ ДИСБАКТЕРИОЗА КИШЕЧНИКА У ПАЦИЕНТОВ С ГАСТРОЭНТЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ Бисенова Н.М., Ергалиева А.С., Махамбетов К.О., Талгатбекова Н.Т.....	292
СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ ГЕНИТАЛЬНЫМ ГЕРПЕСОМ Нуруллаев Р.Р., Исмоилова Д.У., Юлдашов Ж.А.....	293
НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОБИОТИКОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КОРОВ ПРИ СУБКЛИНИЧЕСКОМ МАСТИТЕ Огай Д.К., Кутлиева Г.Д.....	294



ВОЗНИКНОВЕНИЯ БОЛЕЗНЕЙ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ И ЕГО ПРИЧИНЫ У ВОЕННОСЛУЖАЩИХ Расулова М.Т., Райимов А.Х.....	296
ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЧИСТКА АНТИМИКРОБНОЙ СУБСТАНЦИИ ИЗ СУПЕРНАТАНТА МЕСТНОГО ШТАММА L.PLANTARUM 42 Сохибназарова Х.А., Огай Д.К., Миралимова Ш.М., Кутлиева Г.Д.....	298
АДАПТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОФЛОРЫ СОДЕРЖИМОГО ЖЕЛУДКА ПОСЛЕ ТОТАЛЬНОЙ КОЛЭКТОМИИ Шерматов Р.М.....	300
К ИЗУЧЕНИЮ ФАУНЫ НАЕЗДНИКОВ-БРАКОНИД (HYMENOPTERA, BRACONIDAE) НА ПОЛЯХ ХЛОПЧАТНИКА И СМЕЖНЫХ С НИМ КУЛЬТУР В ФЕРГАНСКОЙ ДОЛИНЕ Юлдашев Э.Ю., Юлдашева М.Т., Каримов Н.К.....	302
ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ОСТРОЙ ДИАРЕЙНОЙ ИНФЕКЦИИ Юлдашов Ж.А., Матрасулова Д.М.....	304
КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТАФИЛОКОКОВОЙ КИШЕЧНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ Юлдашов Ж.А., Нуруллаев Р.Р., Исмоилава Д.У.....	305

Научное издание

Всероссийская научно-практическая конференция

**ИННОВАЦИИ В МЕДИЦИНСКОЙ,
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ, ВЕТЕРИНАРНОЙ
И ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ**

*Под редакцией профессора В.Б. Сбойчакова
и доктора медицинских наук В.В. Малышева*

Издательство «Человек и его здоровье»
191025, Санкт-Петербург
Тел./факс: +7 (812) 380-31-55, 380-31-56
welcome@congress-ph.ru
www.congress-ph.ru

Технический редактор:
Бобровник Е.А.
Дизайн, верстка:
Куделина Т.П.