



СИБИРСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ

Всероссийская научно-практическая
конференция с международным участием

**Фундаментальные аспекты
инфекционной патологии
человека:
вызовы и поиск решений**

посвященная 100-летию кафедры
микробиологии и вирусологии СибГМУ

г. Томск,
20-21 ноября 2019 г.г.



Материалы конференции

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

Всероссийское научно-практическое общество эпидемиологов,
микробиологов и паразитологов

Томское общество бактериологов

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ИНФЕКЦИОННОЙ ПАТОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА: ВЫЗОВЫ И ПОИСК РЕШЕНИЙ

Материалы

Всероссийской научно-практической конференции с
международным участием, посвященной 100-летию кафедры
микробиологии и вирусологии СибГМУ

г. Томск, 20-21 ноября 2019 года

Томск
Издательство СибГМУ
2019

УДК 616.9(045)
ББК 55.14я43
Ф 947

Конференция «Фундаментальные аспекты инфекционной патологии человека: вызовы и поиск решений» проведена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и администрации Томской области, проект № 19-415-701003.

Фундаментальные аспекты инфекционной патологии человека: вызовы и поиск решений: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (г. Томск, 20-21 ноября 2019 г.). – Томск: изд-во СибГМУ, 2019. – 112 с.
ISBN 978-5-98591-151-0

Издание включает публикации участников Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Фундаментальные аспекты инфекционной патологии человека: вызовы и поиск решений», организованной Сибирским государственным медицинским университетом, Всероссийским научно-практическим обществом эпидемиологов, микробиологов и паразитологов, Томским обществом бактериологов.

Конференция посвящена 100-летию кафедры микробиологии и вирусологии Сибирского государственного медицинского университета и получила поддержку Российского фонда фундаментальных исследований и администрации Томской области.

В представленных статьях рассматриваются актуальные вопросы вирусологии, микробиологии, иммунологии, вакцинопрофилактики, инфекционной патологии и гигиены. Отдельные статьи посвящены механизмам развития мукозального иммунитета при различной патологии, вопросам диагностики, клинике и профилактике природно-очаговых инфекций, механизмам антибиотикорезистентности микроорганизмов, актуальным вопросам общественного здоровья. Отдельный раздел сборника посвящен статьям студентов – участников конкурса научных работ.

Издание рассчитано на научных работников, преподавателей вузов, практических врачей, молодых ученых, аспирантов, ординаторов и студентов, интересующихся проблемами микробиологии, иммунологии, инфекционной патологии и смежных дисциплин.

**УДК 616.9(045)
ББК 55.14я43**

Тексты представлены в авторской редакции. Авторы опубликованных материалов несут ответственность за точность приведенных цитат, соответствия ссылок оригиналу и прочих сведений.

ISBN 978-5-98591-151-0

© Сибирский государственный медицинский университет, 2019
© Макет изд-ва СибГМУ, 2019

СОДЕРЖАНИЕ

РАЗДЕЛ I Труды участников Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Фундаментальные аспекты инфекционной патологии человека: вызовы и поиск решений».....	7
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПЦР-ТЕСТОВ СЕРИИ «РЕАЛБЕСТ» ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КЛЕЩЕВЫХ РИККЕТСИОЗОВ Бондаренко Е.И., Гафарова М.Т., Малый К.Д., Леонова Г.Н., Лубова В.А., Краснова Е.И., Филимонова Е.С., Щучинова Л.Д., Иванов Л.И., Сильченко Е.В., Сымбелова Т.А., Андаев Е.И., <u>Зверева Н.Г.</u> , Елифанова О.С., Мурмило В.С., Шульковская И.В...	7
БАЦИЛЛЯРНО-КОККОИДНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ <i>HELICOBACTERPYLOR</i> Гладышев Н. С. ¹ , Тааме М. Н. ² Кравцов В. Ю. ³	9
ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ НАСЕЛЕНИЯ Г. ТОМСКА НА ТЕРРИТОРИЯХ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ МАГНИТНОГО ПОЛЯ ПРОМЫШЛЕННОЙ ЧАСТОТЫ Гудина М.В.	12
СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ И МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ В ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЕ Гумилевский Б.Ю., Гумилевская О.П.	16
РОЛЬ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ИММУННОГО РЕАГИРОВАНИЯ В РЕАЛИЗАЦИИ ОНКОГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА Гумилевский Б.Ю., Гумилевская О.П., Киселева Т.А.....	18
ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДЕЛОВОЙ ИГРЫ В ПРЕПОДАВАНИИ ДИСЦИПЛИНЫ «МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ» Дутова С. В., Саранчина Ю. В.	22
СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ВАКЦИНЫ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА Епанчинцев А.А., Колтунов А.А., Гаврилова М.А., Теплова Н.В., Бакулева Н.В., Коновалова О.В., Шкуратова О.В., Дьяконова Е.В., Шарова О.И., Учуватова Е.В.....	25
ХАРАКТЕРИСТИКА РЕГУЛЯТОРНОГО ПОТЕНЦИАЛА БИФИДОБАКТЕРИЙ В КИШЕЧНОМ МИКРОБИОЦЕНОЗЕ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ Захарова Ю.В., Леванова Л.А.	28
ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ И ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ОСТРОГО КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА Ильинских Е.Н., Замятина Е.В., Ильинских Н.Н.	30
ВОЗБУДИТЕЛИ ТРАНСМИССИВНЫХ ИНФЕКЦИЙ В КЛЕЩАХ <i>DERMACENTOR RETICULATUS</i>, СОБРАННЫХ В ГОРОДСКИХ БИОТОПАХ г. ТОМСКА	

Карташов М.Ю., Микрюкова Т.П., Тупота Н.Л., Романенко В.Н., Москвитина Н.С., Терновой В.А., Локтев В.Б.	34
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВАРИАНТОВ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ (ЭПИДСЕЗОН 2018 г.)	
Карташов М.Ю., Акимова А.С., Кривошеина Е.И., Микрюкова Т.П., Терновой В.А., Локтев В.Б.	37
ОСНОВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ПРИРОДНЫХ И ГОРОДСКИХ ОЧАГОВ ХАНТАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ	
Компанец Г.Г.	39
ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ КЛЕБСИЕЛЛ И ИХ ЗНАЧЕНИЕ В ФОРМИРОВАНИИ ДИСБИОТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА	
Леванова Л.А., Марковская А.А.	41
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИМИКОТИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТАМ ГРИБОВ РОДА <i>CANDIDA</i>, ВЫДЕЛЕННЫМ ИЗ КИШЕЧНОГО МИКРОБИОЦЕНОЗА В МОНОКУЛЬТУРЕ И В АССОЦИИ С УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫМИ БАКТЕРИЯМИ	
Марковская А.А., Захарова Ю.В.	44
СОВРЕМЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНЫХ АСПЕКТОВ ИММУНОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА	
Москалев А.В.	46
ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ НАСЕЛЕНИЯ СИБИРСКОГО И ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ФЕДЕРАЛЬНЫХ ОКРУГОВ	
Одинцова И.Н., Жуйкова Л.Д., Ананина О.А.	50
ЦИТОКИНЫ ПРИ ОСТРЫХ И ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ	
Оспельникова Т.П., Морозова О.В.	52
ПРИМЕНЕНИЕ АКТИВНЫХ МЕТОДОВ ОБУЧЕНИЯ ДЛЯ ПРЕПОДАВАНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ «ИММУНОЛОГИЯ» У СТУДЕНТОВ 3 КУРСА СПЕЦИАЛЬНОСТИ «ЛЕЧЕБНОЕ ДЕЛО»	
Саранчина Ю.В.	55
ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОЙ ПРОДУКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С МУЛЬТИФОКАЛЬНЫМ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ	
Саранчина Ю.В., Дутова С.В., Килина О.Ю., Кулакова Т.С., Ханарин Н.В.	58
МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ В, С, D, G, E	
Семенов С.И., Степанов К.М., Писарева М.М.	61

**РИСК-ОРИЕНТИРОВАННЫЙ ПОДХОД К РАНЖИРОВАНИЮ
ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ ОПАСНОСТИ ТЕРРИТОРИЙ, ЭНДЕМИЧНЫХ ПО
КЛЕЩЕВОМУ ВИРУСНОМУ ЭНЦЕФАЛИТУ**

Сергеев А.Г., Мищенко В.А., Быков И.П., Романенко В.В., Чистякова Л.Г., Алимов
А.В. 65

**15-ЛЕТНЯЯ ДИНАМИКА ФАКТОРОВ РИСКА ХРОНИЧЕСКИХ
НЕИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В СТУДЕНЧЕСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ**

Серебрякова В.Н., Якимович И.Ю., Мульдьярова Е.А., Кавешников В.С.,
Кавешников А.В. 68

**АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ И РАСПРОСТРАНЕНИЯ
СИБИРСКОГО СУБТИПА ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА**

Ткачев С.Е., Бабкин И.В., Чичерина Г.С., Козлова И.В., Верхозина М.М., Демина Т.В.,
Лисак О.В., Дорощенко Е.К., Джигоев Ю.П., Сунцова О.В., Белокопытова П.С.,
Тикунов А.Ю., Савинова Ю.С., Парамонов А.И., Глупов В.В., Злобин В.И., Тикунова
Н.В. 69

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОМПЛЕКСНОГО ПОДХОДА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ
ЭТИОЛОГИИ ЗАБОЛЕВАНИЯ У ПАЦИЕНТОВ В РЕЗУЛЬТАТЕ
ПРИСАСЫВАНИЯ КЛЕЩА**

Филимонова Е.С., Бондаренко Е.И., Краснова Е.И., Криницына Э.В., Рахматова У.И.,
Лобанов Л.И., Позднякова Л.Л. 71

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ MRSA,
ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ КРАСНОЯРСКОГО КРАЯ**

Хохлова О.Е., Перьянова О.В., Сидоренко С.В., Ямамото Т. 75

РАЗДЕЛ II Труды студентов – участников конкурса студенческих работ 78

**ВЛИЯНИЕ СТИМУЛЯЦИИ ИММУННОГО ОТВЕТА НА ТЕЧЕНИЕ
ХРОНИЧЕСКОЙ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ У МЫШЕЙ**

Аникина А. Ю. 78

**САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КАЧЕСТВА КОНДИТЕРСКИХ
ИЗДЕЛИЙ БУФЕТА КОРПУСА №2 «ХГУ ИМ. Н.Ф. КАТАНОВА»**

Апальков Д. Г., Кичеева А. И., Курчатова К.Г., Саранчина Ю. В. 80

**АНАЛИЗ ПРОФИЛЯ N-ГЛИКАНОВ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ЖИЗНЕННОГО
ЦИКЛА ПАРАЗИТИЧЕСКОЙ ТРЕМАТОДЫ OPISTHORCHIS FELINEUS**

Беяева С.А. 83

**ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО СТАТУСА СТУДЕНТОВ С ПРОЯВЛЕНИЯМИ
АЛЛЕРГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ**

Кеберле С.П., Саранчина Ю.В. 85

**САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ПОЧВ ДЕТСКИХ
ПЛОЩАДОК**

Кичеева А. И., Апальков Д. Г., Ананьевская В. О., Саранчина Ю. В. 88

САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОЗДУХА В ЗАКРЫТЫХ ПОМЕЩЕНИЯХ «ХГУ ИМ. Н.Ф.КАТАНОВА»	
Куприянова Д.Н., Корчма Ю.В., Литвиенко М.А., Пронкина, Саранчина Ю. В.	92
ПРОБЛЕМЫ ВОДОСНАБЖЕНИЯ НАСЕЛЕНИЯ В ТОМСКЕ	
Лёгоньякая А.Ю.	95
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ И МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗНОГО КОМПЛЕКСА В МОДЕЛИ ТРЕХМЕРНОЙ ГРАНУЛЕМЫ INVITRO	
Меламуд М. М., Аникина А.У.....	97
ВЛИЯНИЕ МИКОБАКТЕРИЙ РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ПАТОГЕННОСТИ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ ПОЛЯРИЗАЦИЮ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ	
Немкова Е.К. ^{1,2}	99
ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОМИКРОБНОГО ЭФФЕКТА ПЬЕЗОЭЛЕКТРИЧЕСТВА, ГЕНЕРИРУЕМОГО ПОЛИМЕРНЫМИ СКЭФФОЛДАМИ	
Сапожникова А. С.	102
ФАКТОРЫ РИСКА И КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ РЕЦИДИВИРУЮЩЕЙ РОЖИ	
Туремуратова Ф.Б.....	105
МИКРОФЛОРА СЛИЗИСТОЙ ЗЕВА МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ МНОГОПРОФИЛЬНОГО СТАЦИОНАРА	
Уткина Е. В., Отдушкина Л.Ю.	106
АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЙ И ПРОТИВОГРИБКОВЫЙ СПЕКТР ДЕЙСТВИЯ ПИОЦИАНИНА	
Хан Е.А., Чубик М.В.	108
ПРОБЛЕМЫ И АКТУАЛЬНЫЕ РЕШЕНИЯ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СУБСТАНЦИЙ НА ПРИМЕРЕ ПИОЦИАНИНА	
Хохлова И. Ю.	110

РАЗДЕЛ I

Труды участников Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Фундаментальные аспекты инфекционной патологии человека: вызовы и поиск решений»

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПЦР-ТЕСТОВ СЕРИИ «РЕАЛБЕСТ» ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КЛЕЩЕВЫХ РИККЕТСИОЗОВ

Бондаренко Е.И.¹, Гафарова М.Т.², Малый К.Д.², Леонова Г.Н.³, Лубова В.А.³, Краснова Е.И.⁴, Филимонова Е.С.⁴, Щучинова Л.Д.⁵, Иванов Л.И.⁶, Сильченко Е.В.⁷, Сымбелова Т.А.⁷, Андаев Е.И.⁸, **Зверева Н.Г.**⁹, Епифанова О.С.⁹, Мурмило В.С.¹⁰, Шульковская И.В.¹⁰

¹АО «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия;

²Крымский Федеральный Университет имени И.И. Вернадского, Симферополь, Республика Крым, Россия;

³НИИ эпидемиологии и микробиологии, Владивосток, Россия;

⁴Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск, Россия;

⁵Управление Роспотребнадзора по Республике Алтай, Горно-Алтайск, Россия;

⁶Хабаровская противочумная станция, Хабаровск, Россия;

⁷Республиканская клиническая инфекционная больница, г. Улан-Удэ, Республика Бурятия, Россия;

⁸Иркутский научно-исследовательский противочумный институт, Иркутск, Россия;

⁹Центр гигиены и эпидемиологии в Красноярском крае, Красноярск, Россия;

¹⁰Центр гигиены и эпидемиологии в Амурской области, Благовещенск, Россия.

ebondarenko@ngs.ru

Ключевые слова: риккетсия, клещевые риккетсиозы, диагностика риккетсиозов, ПЦР.

THE USE OF PCR TESTS OF THE REALBEST SERIES TO IDENTIFY GENETIC MARKERS OF TICK-BORNE RICKETTSIOSIS PATHOGENS

Bondarenko E.I.¹, **Gafarova M.T.**², **Malyi K.D.**², **Leonova G.N.**³, **Lubova V.A.**³, **Krasnova E.I.**⁴, **Filimonova E.S.**⁴, **Shchuchinova L.D.**⁵, **Ivanov L.I.**⁶, **Silchenko E.V.**⁷, **Simbelova T.A.**⁷, **Andaev E.I.**⁸, **Zvereva N.G.**⁹, **Epifanova O.S.**⁹, **Murmilo V.S.**¹⁰, **Shulkovskaya I.V.**¹⁰

¹AO «Vector-Best», Novosibirsk, Russia;

²Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russia;

³Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russia;

⁴Novosibirsk State Medical University, Russia;

⁵Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in the Altai Republic, Gorno-Altai, Russia;

⁶*Khabarovsk Antiplague Station Rospotrebnadzor, Khabarovsk, Russia;*

⁷*Republican Clinical Infectious Diseases Hospital, Ulan-Ude, Republic of Buryatia, Russia;*

⁸*Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Siberia and the Far East, Irkutsk, Russia;*

⁹*Center of Hygiene and Epidemiology in Krasnoyarsk region, Russia;*

¹⁰*Center for Hygiene and Epidemiology in Amur region, Russia.*

ebondarenko@ngs.ru

Key words: Rickettsia, Tick-Borne rickettsioses, diagnosis of rickettsioses, PCR.

Согласно ранее опубликованным данным на территории Российской Федерации (РФ) отмечена циркуляция 7 видов риккетсий, относящихся к группе клещевых пятнистых лихорадок: *R.conorii*, *R.sibirica*, *R.heilongjiangensis*, *R.slovaca*, *R.aeschlimannii*, *R.helvetica*, *R.raoultii*, из которых только три первых из них связывают с массовыми заболеваниями клещевыми риккетсиозами (КР) людей в нашей стране. Риску заражения КР подвержено не только население, проживающее в эндемичных регионах России, но и миллионы людей, посещающие эти территории для активного отдыха на природе. К таким эндемичным местам относится побережье Приморского края, реки Амур и озера Байкал, заповедник Красноярские столбы, Алтай, Хакасия, где выявлены патогенные виды *R.sibirica* и *R.heilongjiangensis*, являющиеся возбудителями Сибирского клещевого тифа и Дальневосточного клещевого риккетсиоза, соответственно. Последнее время среди отдыхающих пользуется большой популярностью полуостров Крым, где отмечена циркуляция *R.conorii*, возбудителя марсельской (средиземноморской) лихорадки.

С целью выявления ДНК-маркеров риккетсий в клинических образцах нами был разработан, апробирован и зарегистрирован ПЦР-тест в режиме реального времени «РеалБест ДНК Rickettsiaspecies» (АО «Вектор-Бест», Новосибирск), который может быть использован также и для лабораторного анализа клещей, но без уточнения вида выявляемого возбудителя в образце. Проанализировав более 7000 клещей, собранных в 10 регионах РФ (Западной и Восточной Сибири, Дальнего Востока, полуострова Крым), было установлено, что уровень заражения эктопаразитов риккетсиями варьировал от 7 до 92% в зависимости от вида клеща и исследуемого региона. В результате секвенирования ДНК положительных образцов по фрагментам четырех генов (*gltA*, *ompA*, *ompB*, *sca4*) на основе анализа полученных нами данных, на обследованных территориях установлена циркуляция 12 видов риккетсий, восемь из которых описаны как патогенные для человека: *R.sibirica*, *R.heilongjiangensis*, *R.conorii*, *R.slovaca*, *R.aeschlimannii*, *R.massilae*, *R.mongolotimonae*, *R.monacensis*.

Так, в результате проведенного ПЦР-анализа клещей, собранных на полуострове Крым установлено, что ДНК-маркер риккетсий, участок гена *gltA*, присутствовал в 28% (в 554 из 1972) анализированных клещах. Из положительных образцов ДНК была повторно выделена и предприняты попытки амплификации фрагментов четырех генов риккетсий. Всего было проведено секвенирование порядка 700 полученных последовательностей. Идентификация вида риккетсий, присутствующих в исследуемых образцах, проводилась в результате сравнения с данными GenBank минимум по двум генам. Вид риккетсий удалось установить в 120 анализированных образцах. Результаты анализа полученных нами нуклеотидных последовательностей свидетельствовали о циркуляции на территории Крыма 8 видов риккетсий – *R.conorii* (выявлено 9 образцов – 7,5%), *R.mongolotimonoi* (5 образцов – 4,2%), *R.aeshlimanii* (28 образцов – 23,3%), *R.slovaca* (16 образцов – 13,3%), *R.monacensis* (8

образцов – 6,7%), *R.massilae* (2 образца – 1,7%), *R.helvetica* (15 образцов – 12,5%) и *R. raoultii* (37 образцов – 30,8%). Часть полученных последовательностей была депонирована в международной базе данных NCBI.

С помощью разработанного ПЦР-теста ДНК-маркеры *R. sibirica* и *R. heilongjiangensis*, возбудителей клещевого риккетсиоза, были выявлены в клинических пробах (крови, плазмы, лейкоцитарной фракции, мочи, биоптатах, в смывах, взятых с первичного аффекта), полученных от больных, которые поступили с диагнозом клещевой риккетсиоз в лечебные учреждения регионов Дальнего Востока, Западной и Восточной Сибири.

С целью выявления в клещах этих двух патогенных видов риккетсий дополнительно был разработан ПЦР-тест «РеалБест ДНК *Rickettsiasibirica/Rickettsiaheilongjiangensis*». Полученные результаты свидетельствуют, что встречаемость ДНК *R.heilongjiangensis* варьирует от 0,7 в клещах *I.persulcatus* до 29% в *H.concinna*. Встречаемость *R.sibirica* наблюдалась от 0,6 в *D.silvarum* до 17% в *D.nuttalli*. Показано, что оба разработанных ПЦР-теста могут быть успешно использованы для выявления циркуляции патогенных видов риккетсий в природных очагах, для обнаружения их ДНК-маркеров в клещах, от укуса которых пострадали люди, с целью прогнозирования заболевания. Также ПЦР-тесты могут быть использованы для анализа клинических образцов в лабораторной диагностике клещевых риккетсиозов.

БАЦИЛЛЯРНО-КОККОИДНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ

HELICOBACTERPYLORI

Гладышев Н. С.¹, Тааме М. Н.², Кравцов В. Ю.³

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

²Университет Восточной Финляндии, Йюэнсуу, Финляндия; ³Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

kvyspb@mail.ru

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, коккоиды, бациллярно-коккоидная трансформация.

BACILLARY-COCCOID TRANSFORMATION OF *HELICOBACTER*

PYLORI

Gladyshev N. S.¹, Taame M. N.², Kravtsov V. Yu.³

¹St-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia; ²University of Eastern Finland, Joensuu, Finland; ³Military Medical Academy of S.M. Kirov, Saint-Petersburg, Russia

kvyspb@mail.ru

Key words: *Helicobacter pylori*, coccoids, bacillary-coccoid transformation

Введение

Helicobacter pylori представляет собой грамотрицательную микроаэрофильную бактерию, которая присутствует в организме человека, как при нормальных, так и при патологических состояниях. Хотя бактерия представлена главным образом в виде спирали, она способна образовывать коккоидные формы с помощью процесса, названного бациллярно-коккоидной трансформацией (БКТ) [1]. Несмотря на то, что мы значительно

продвинулись в понимании морфологии, жизнедеятельности и патогенезе заболеваний вызванных *H. pylori*, у нас нет четкого понимания значения коккоидов в развитии патологий, а также необходимости их учета для подбора эрадикационной терапии. В настоящей статье обсуждаются наиболее актуальные вопросы, касающиеся БКТ *H. pylori*, а именно: жизнеспособность коккоидов, механизм БКТ и ее обратимость, способность коккоидов обеспечивать передачу бактерии.

Жизнеспособность коккоидов. По своей морфологической структуре коккоиды *H. pylori* делятся на два типа: на тип А, имеющий шероховатую поверхность и неровные края, этот тип считается мертвой бактериальной клеткой; тип В, который имеет гладкую поверхность и меньший размер, считается жизнеспособным [2]. Указывает на жизнеспособность коккоидов их возможность образовывать биопленки. Причем коккоиды *H. pylori* обладают повышенной способностью агрегировать в мономикробные бактериальные кластеры, окруженные толстой матрицей экзополисахарида [3], что обеспечивает им устойчивость к неблагоприятным условиям. О жизнеспособности коккоидов можно говорить и с позиции их метаболизма. Sarafnejad A. и др. [4] показали методом проточной цитометрии способность коккоидов абсорбировать Rhodamin 123, тем самым доказав наличие их метаболической активности. Однако, абсорбция происходила с меньшей активностью, чем у спиральных форм, что указывает на замедление метаболизма коккоидов *H. pylori*. В дальнейшем Loke M. и др. подтвердили, что активность большинства ферментов в данной морфологической форме сохранялась на базальном уровне, а активность оставшихся была увеличена [5]. Замедление метаболизма является важным механизмом, необходимым для выживания в экстремальных условиях, таких как недостаток кислорода, энергетических субстратов и так далее. Эти данные говорят в пользу того, что коккоид *H. pylori* является не только жизнеспособной морфологической формой, но и особой стратегией существования, которую выбирает бактерия для жизни в неблагоприятных условиях.

Бациллярно-коккоидная трансформация и ее обратимость. В процессе трансформации *H. pylori* проходит несколько этапов: S (спираль)-форма, U-форма и C (коккоид)-форма. Начальная стадия превращения *H. pylori* в коккоидную форму сопровождается конденсацией протоплазматического матрикса и увеличением периплазмы на одной стороне микроорганизма. Увеличение объема периплазматического пространства приводит к растяжению клеточной стенки, смещению протоплазматического матрикса к периферии и накоплению плотного материала, что приводит к образованию U-образных клеток (U-форм) [6]. Затем U-формы превращаются в коккоиды с увеличением протоплазматического цилиндра и образованием двойной мембранной системы [7]. БКТ стимулируется в основном воздействием неблагоприятных условий [8, 9], однако возможна трансформация и в благоприятных условиях, например при длительном культивировании [4]. Имеются два возможных объяснения этого процесса. Согласно первому, при длительном культивировании бактерий в колонии увеличивается концентрация индукторов БКТ [10], которые увеличивают популяцию коккоидов. Другое объяснение может заключаться в том, что при длительном культивировании в колониях бактерий накапливаются токсичные метаболиты, которые стимулируют переход спирали в более устойчивую морфологическую форму. На данный момент имеются противоречивые данные относительно обратимости БКТ. Одни исследователи сообщают о возможности преобразования коккоидов в спираль путем создания особых условий, в то время как другие отрицают эту возможность [11, 12, 13]. В

исследованиях на мышах была показана возможность перехода коккоида в спираль *in vivo* [13]. Отсюда следует, что при строго определенных физико-химических и биологических условиях коккоидные формы могут вернуться к спиральному фенотипу.

Способность коккоидов обеспечивать передачу бактерии. Если будет окончательно доказана обратимость БКТ в организме человека, то встанет вопрос о возможности распространения инфекции с помощью коккоидных форм. Krzyżek P. и Gościński G. предложили гипотетическую модель передачи коккоидных форм *H. pylori* ими индукции инфекционного процесса [10]. Заражение *H. pylori* происходит при проглатывании загрязненной воды, пищи или контакте с инфицированным человеком. Организм инфицируется преимущественно коккоидами, так как именно в этой форме бактерия может длительное время существовать во внешней среде [14]. Далее коккоиды при воздействии микробиоты желудка переходят в подвижные спиральные формы, которые колонизируют слизистую оболочку, образуют биопленки и способствуют развитию заболеваний [10]. Затем в биопленке накапливаются индукторы БКТ, которые способствуют образованию коккоидов и выходу их с калом в окружающую среду [10, 15].

Заключение

Таким образом, БКТ является важным процессом в жизнедеятельности *H. pylori*, возможно, играет ключевую роль в передаче бактерии, однако вопрос обратимости БКТ требует дальнейших исследований.

Литература

1. Andersen LP, Rasmussen L. Helicobacter pylori-coccoid forms and biofilm formation. FEMS Immunology & Medical Microbiology. 2009;56(2): 112-115. Available from: doi: 10.1111/j.1574-695X.2009.00556.x.
2. Sato F, Saito N, Konishi K, Shoji E, Kato M, Takeda H et al. Ultrastructural observation of Helicobacter pylori in glucose-supplemented culture media. Journal of medical microbiology. 2003;52(8): 675-679. Available from: doi: 10.1099/jmm.0.05146-0.
3. Cellini L, Grande R, Di Campli E, Traini T, Di Giulio M, Lannutti SN, Lattanzio R. Dynamic colonization of Helicobacter pylori in human gastric mucosa. Scand J Gastroenterol. 2008;43: 178–185. Available from: doi: 10.1080/00365520701675965.
4. Sarafnejad A, Siavoshi F, Safaralizadeh R, Masarat S, Khosravi F, Malekzadeh R et al. Assessment of Helicobacter pylori viability by flow cytometry. Iran J Public Health. 2006; 36(1):50-54. Available from: <http://ijph.tums.ac.ir/index.php/ijph/article/view/2134> [Accessed 27rd October 2019].
5. Loke MF, Ng CG, Vilashni Y, Lim J, Ho B. Understanding the dimorphic lifestyles of human gastric pathogen Helicobacter pylori using the SWATH-based proteomics approach. Scientific reports 2016;6: 26784. Available from: doi: 10.1038/srep26784 (2016).
6. Reshetnyak VI, Reshetnyak T M. Significance of dormant forms of Helicobacter pylori in ulcerogenesis. World journal of gastroenterology. 2017;23(27): 4867-4878. Available from: doi: 10.3748/wjg.v23.i27.4867.
7. O'Rourke J, Bode G. Morphology and ultrastructure (Chapter 6). In: Mobley HLT, Mendz GL, Hazell SL. (eds). Helicobacter pylori: physiology and genetics. Washington (DC): ASM Press. 2001;6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2452/> [Accessed 27rd October 2019].
8. Donelli G, Matarrese P, Fiorentini C, Dainelli B, Taraborelli T, Campli ED et al. The effect of oxygen on the growth and cell morphology of Helicobacter pylori. FEMS microbiology letters 1998;168(1): 9-15. Available from: doi: 10.1111/j.1574-6968.1998.tb13248.x.

9. Benaissa M, Babin P, Quellard N, Pezennec L, Cenatiemo Y, Fauchere JL. Changes in *Helicobacter pylori* ultrastructure and antigens during conversion from the bacillary to the coccoid form. *Infection and immunity* 1996;64(6): 2331-2335. Available from: <https://iaj.asm.org/content/64/6/2331.short> [Accessed 27rd October 2019].
10. Krzyżek P, Gościński G. A proposed role for diffusible signal factors in the biofilm formation and morphological transformation of *Helicobacter pylori*. *The Turkish Journal of Gastroenterology*. 2018;29(1): 7. Available from: doi: 10.5152/tjg.2017.17349.
11. Kurokawa M, Nukina M, Nakanishi H, Tomita S, Tamura T, Shimoyama T. Resuscitation from the viable but nonculturable state of *Helicobacter pylori*. *Kansenshogaku Zasshi*. 1999;73(1): 15–19. Available from: doi: 10.11150/kansenshogakuzasshi1970.73.15.
12. Sörberg M, Nilsson M, Hanberger H, Nilsson LE. Morphologic conversion of *Helicobacter pylori* from bacillary to coccoid form. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1996;15(3): 216–9. Available from: doi: 10.1007/BF01591357.
13. Cellini L, Allocati N, Angelucci D, Lezzi T, Campi E. D., Marzio L et al. Coccoid *Helicobacter pylori* not culturable in vitro reverts in mice. *Microbiol Immunol*. 1994;38(11): 843–850. Available from: doi: 10.1111/j.1348-0421.1994.tb02136.x.
14. West AP, Millar MR, Tompkins DS. Effect of physical environment on survival of *Helicobacter pylori*. *Journal of Clinical Pathology*. 1992;45(3): 228–231. Available from: doi: 10.1136/jcp.45.3.228.
15. Kravtsov VYu, Grukhin YuA. "Immunocytochemical study of *Helicobacter pylori* in the mucosae of the gastric antrum and rectum." *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2012;153(3): 348-350. Available from: doi: 10.1007/s10517-012-1712-x.

ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ НАСЕЛЕНИЯ Г. ТОМСКА НА ТЕРРИТОРИЯХ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ МАГНИТНОГО ПОЛЯ ПРОМЫШЛЕННОЙ ЧАСТОТЫ

Гудина М.В.

*ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России,
г. Томск, Россия*

mar_gud@mail.ru

Ключевые слова: магнитные поля, промышленная частота, линии электропередачи, заболеваемость, онкологические заболевания, инфаркт миокарда, эндокринные болезни.

THE INCIDENCE OF THE POPULATION OF THE CITY OF TOMSK IN TERRITORIES WITH DIFFERENT LEVELS OF MAGNETIC FIELDS OF POWER FREQUENCY

Gudina M.V.

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

mar_gud@mail.ru

Keywords: magnetic fields, industrial frequency, power lines, incidence, cancer, myocardial infarction, endocrine diseases.

Введение

Магнитные поля промышленной частоты (МП ПЧ) 50 Гц на территориях населенных мест генерируются в основном воздушными линиями электропередачи (ЛЭП). Эти поля распространяются на десятки метров от проводов работающей ЛЭП. Напряженность магнитного поля под проводами и вблизи них зависит от класса напряжения ЛЭП, нагрузки на распределительную сеть, высоты размещения, расстояния между проводами, растительного покрова, рельефа под линией; значительная часть энергии магнитного поля поглощается почвой и убывает по мере удаления от ЛЭП [1]. В итоге на селитебной территории возникают районы, значительно отличающиеся по интенсивности МП ПЧ. Гигиенических нормативов на внепроизводственные воздействия магнитной составляющей ЭМП промышленной частоты длительное время установлено не было. В 1979 г. Wertheimer и Leeper в эпидемиологических исследованиях показали связь между МП ПЧ и детской лейкемией [2]. С того времени было проведено множество исследований, в которых изучалась связь магнитного поля ЛЭП с частотой лейкемии у детей, реже – с онкологическими заболеваниями у взрослых. В большинстве работ рассчитывали относительный риск онкозаболеваний среди населения, проживающего на разных расстояниях от ЛЭП [3–6]. В нашем исследовании анализировалась заболеваемость населения болезнями эндокринной системы, инфарктом миокарда, злокачественными новообразованиями на территориях города, где производились измерения величины магнитной индукции магнитного поля промышленной частоты.

Материалы и методы

В работе была использована карта-схема, содержащая данные об электромагнитной загрязненности Кировского и Советского районов города Томска, полученные коллегами кафедры космической физики и экологии ТГУ [7], где путем цветовой градации были отображены территории с разными уровнями магнитной индукции МП ПЧ. Карта создавалась путем измерения магнитной индукции специальными приборами – тестерами магнитной индукции (ТМИ 1), объединенными в автоматизированный комплекс с ноутбуком и GPS-приемником. В соответствии с этой картой были выделены районы с низким (20–140 нТл), средним (141–950 нТл) и высоким (951–2511 нТл) уровнями магнитной индукции. В соответствии с этой картой, были выбраны дома, оказавшиеся в зонах с тем или иным уровнем магнитной загрязненности. В этих домах, относящихся к исследуемым территориям с низким, средним и высоким уровнем магнитной индукции, была исследована заболеваемость населения.

Для анализа заболеваемости использовались данные регистра острого инфаркта миокарда (ОИМ) НИИ кардиологии ТНЦ СО РАМН за 18 лет, канцер-регистра Томского областного онкологического диспансера за 9 лет, регистратуры Областного эндокринологического диспансера за 1 год. На выделенных территориях был произведен расчёт относительных значений заболеваемости. Информация о численности населения в домах на исследуемых территориях была получена в вычислительном центре жилищно-коммунального хозяйства администрации г. Томска.

Результаты

Было установлено, что средние уровни заболеваемости ОИМ существенно отличались на территориях с разным уровнем МП ПЧ. Самая низкая заболеваемость составила 4,65 ‰ и наблюдалась на территориях с низким уровнем МП ПЧ, самая высокая – 7,96 ‰ – на территориях с высоким уровнем МП ПЧ. На большей части исследуемых районов, где уровень МП ПЧ находился в диапазоне средних значений, заболеваемость составила 7,42 ‰

(табл. 1). Сравнительные оценки на основе критерия Вилкоксона показали статистически значимые различия уровня заболеваемости в районах с низким и средним, низким и высоким уровнем напряжённости МП ($p=0,0002$), на территориях со средним и высоким уровнем напряжённости МП ($p=0,017$).

Таблица 1

Статистические оценки сравнения выборок заболеваемости населения острым инфарктом миокарда на территориях с разным уровнем МП ПЧ

Магнитная индукция МП ПЧ, нТл	Заболеваемость					t - критерий	p - уровень
	Среднее	Медиана	Стандартное отклонение	Минимум	Максимум		
20-140	4,64	4,49	1,13	2,69	6,73	10,604*	0,000*
141-950	7,42	7,36	0,92	6,17	9,34	2,738**	0,014**
951-2511	7,96	8,16	1,16	5,44	9,72	9,957***	0,000***

* - t-критерий и уровень значимости различий заболеваемости ОИМ на территориях с низким и средним уровнем ЭМП ПЧ; ** - на территориях со средним и высоким уровнем ЭМП ПЧ; *** - на территориях с низким и высоким уровнем ЭМП ПЧ

Анализ онкологической заболеваемости за указанный период времени показал, что частота возникновения злокачественных новообразований у населения возрастает с увеличением значений МП ПЧ на территории проживания от 9,78 ‰ в зонах с низким уровнем МП до 10,87 ‰ и 14,36 ‰ на территориях со средними и высокими значениями магнитной индукции МП ПЧ соответственно (табл. 2).

Таблица 2

Статистические характеристики заболеваемости населения злокачественными новообразованиями на территориях с разными уровнем магнитной индукции поля промышленной частоты

Магнитная индукция МП ПЧ, нТл	Заболеваемость				
	среднее	медиана	стандартное отклонение	минимум	максимум
20–140	9,78	9,69	1,42	7,86	12,02
141–950	10,87	10,88	1,06	9,26	12,55
951-2511	14,36	13,88	1,77	12,48	17,45

Градация заболеваемости на территориях с разным уровнем МП ПЧ прослеживались из года в год в течение всех лет наблюдения. Отмечено, что наблюдаемая закономерность формируется преимущественно за счет частоты новообразований центральной нервной системы, эндокринных желез, лимфоидной и кроветворной тканей.

Аналогичным образом распределилась заболеваемость эндокринными болезнями на исследуемых территориях. При этом самая низкая заболеваемость (29,2 ‰) наблюдалась на территориях с минимальными значениями величины магнитной индукции МП, это в 1,4 раза меньше, чем самая высокая частота заболеваний (41,8 ‰) в районах с максимальным уровнем МП ПЧ; средний уровень заболеваемости (40,3 ‰) соответствовал среднему уровню МП. Тенденция к увеличению заболеваемости по мере роста значений магнитной индукции МП ПЧ формируется в основном за счет болезней щитовидной железы, где наблюдается та же степень различий, что и в заболеваемости всеми эндокринными болезнями (табл. 3).

Заболеваемость населения болезнями эндокринной системы на территориях с разным уровнем магнитного поля промышленной частоты

Магнитная индукция МП ПЧ, нТл	Все болезни	Заболеваемость, ‰				
		Болезни щитовидной железы	Сахарный диабет	Нарушения питания	Нарушения обмена веществ	Прочие
20-140	29,2	19,5	3,05	4,3	0,8	1,5
141-950	40,3	28,4	1,88	3,16	0,7	4,2
951-2511	41,8	29,0	3,52	4,1	1,8	4,2

Выводы. Анализ заболеваемости населения, проживающего на территориях с разным уровнем магнитных полей промышленной частоты, создаваемых линиями электропередачи, расположенными в черте города, показал, что магнитное поле ПЧ является фактором окружающей среды населенных мест, влияющим на частоту и структуру болезней системы кровообращения, онкологических и эндокринных заболеваний. Относительно безопасным для здоровья населения уровнем магнитной компоненты ЭМП ПЧ является 200 нТл = 0,2 мкТл, что во много раз ниже, чем допустимая для селитебных территорий величина 10 мкТл, принятая действующими СанПиН 2.1.2.2645-10. [8].

Литература

1. Измеров Н.Ф., Суворов Г.А. Физические факторы производственной и природной среды. Гигиеническая оценка и контроль. – М.: Медицина; 2003.
2. Wertheimer N., Leeper E. Electrical wiring configuration and childhood. Amer. J. Epidemiol. 1979; 109 (3): 273–84.
3. Draper G., Vincent T., Kroll M.E., Swanson J. Childhood cancer in relation to distance from high voltage power lines in England and Wales: a case-control study. BMJ. 2005; 330 (7503): 1290.
4. Sohrabi M.R., Tarjoman T., Abadi A., Yavari P. Living near overhead high voltage transmission power lines as a risk factor for childhood acute lymphoblastic leukemia: a case-control study. Asian. Pac. J. Cancer. Prev. 2010;11(2):423–7.
5. Sermage-Faure C., Demoury C., Rudant J., Goujon-Bellec S., Guyot-Goubin A., Deschamps F. et al. Childhood leukaemia close to high-voltage power lines – the Geocap study, 2002–2007. Br. J. Cancer. 2013; 108 (9): 1899–906.
6. Pedersen C., Raaschou-Nielsen O., Rod N.H., Frei P., Poulsen A.H., Johansen C. et al. Distance from residence to power line and risk of childhood leukemia: a population-based case-control study in Denmark. Cancer Causes Control. 2014; 25 (2):171-7.
7. Колесник А.Г., Колесник С.А., Бородин А.С., Шошин Е.Л., Федичев М.А. Электромагнитный фон городских территорий диапазона промышленных частот. Вестник ТГУ. 2007; 297: 161–4.
8. СанПиН 2.1.2.2645-10. Санитарно-эпидемиологические требования к условиям проживания в жилых зданиях и помещениях.

СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ И МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ В ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЕ

Гумилевский Б.Ю., Гумилевская О.П.

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

gumbu@mail.ru,

Ключевые слова: микробиология, метагеном, микробиом, микробиота, иммунитет.

MODERN TECHNOLOGIES AND MEDICAL MICROBIOLOGY IN PERSONALIZED MEDICINE

Gumilevsky B.Yu., Gumilevskaya O.P.

Military Medical Academy S.M. Kirova, St. Petersburg, Russia

gumbu@mail.ru,

Keywords: microbiology, metagenome, microbiome, microbiota, immunity.

Введение

Неинфекционные заболевания (НИЗ) занимают первое место по показателям смертности. ВОЗ определяет НИЗ как незаразные, хронические, обычно медленно прогрессирующие заболевания: сердечно-сосудистые, онкологические, эндокринные, болезни органов дыхания. ВОЗ назвала распространение этих болезней «эпидемией неинфекционных заболеваний» и определила методы борьбы с «эпидемией неинфекционных заболеваний»: контроль внешних факторов риска (сбалансированное питание, физическая активность, отказ от табакокурения, ограничение приема алкоголя); улучшение качества медицинской помощи (профилактика, персонализация, таргетная терапия, доступность медицины). Авангардом принципов медицины XXI века является Медицина 5«П»: Предсказательная, Профилактическая, Партисипаторная, Персонализированная, Прецизионная. Развитием принципов современной медицины занимается Трансляционная медицина, которая внедряет новейшие достижения естественных наук и биоинформационных технологий в медицинскую практику: технология секвенирования, геномика и метагеномика, проекты геном и микробиом человека, модификация Т-клеточного рецептора, редактирование генома взрослого человека, моноклональные антитела в модуляции противоопухолевого иммунитета и т.д.

Материал и методы

Современный этап развития микробиологии связан с бурным внедрением методов генетического анализа для характеристики и идентификации микроорганизмов. С применением методов и принципов метагеномики – раздела геномики, посвященного изучению всего генетического материала (метагенома) сообществ микроорганизмов исследуемого образца. Для этого проводят получение и анализ всех имеющихся в образце геномов для установления видового состава и метаболических взаимосвязей в сообществе. При этом нет необходимости в выделении и культивировании микроорганизмов, что позволяет выявить бактерии, вирусы и простейшие [1]. Метагеномные исследования используют следующие методы: секвенирование метагеномной ДНК сообщества путем ее случайного фрагментирования; секвенирование фрагментов ДНК, кодирующих

эволюционно консервативные гены. Для проведения широкомасштабных дорогостоящих исследований микробиома человека ученые различных стран мира объединились в консорциумы: Европейский консорциум Metagenomics of the Human Intestinal Tract (MetaHit) в 2008 г.; Американский «Микробиом человека» (Human Microbiome Project – HMP) в 2007 г.; Российский «Русский метагеномный проект» в 2009 году. Исследования микробиома человека во всем мире координируются главным международным объединением – International Human Microbiome Consortium (www.human-microbiome.org).

Результаты и обсуждение

После того, как был секвенирован человеческий геном, выяснилось, что он состоит из сравнительно небольшого количества генов кодирующих белки, необходимые для создания физиологии и анатомии такого сложного организма, как человек. Вместо ожидаемых 100000 генов было найдено только 20 000, что сравнимо с геномом дрожжевой клетки. Это расхождение между ожидаемым и фактическим числом генов можно объяснить, если рассматривать людей как суперорганизмы: крупные существа, которым принадлежит огромное количество симбиотических микроорганизмов, живущим внутри нас и на нашей поверхности. Эти группы симбионтов живут в пяти областях нашего тела: полости носа, полости рта, желудочно-кишечного тракта, кожи и мочеполового тракта и образуют так называемую микробиоту или микробиом соответствующих областей нашего организма. Если к нашим генам добавить генетические коды этих микробиот, то общее количество генов будет на уровне ожидаемых 100 000. Очевидно предположить, что состав этих микробиот имеет важное значение в поддержании гомеостаза и развитии самых разнообразных заболеваний. Было установлено, что микробиомы имеют огромное разнообразие микроорганизмов, меняются с возрастом, зависят от гормонального фона, а также влияния химических и физических факторов. Так, при исследовании виroma толстого кишечника, из всех полученных последовательностей вирусной ДНК не идентифицировались 86%. В микробиоме слюны человека без признаков заболеваний ротовой полости выявляется около 200 бактериальных таксонов, половина из которых не идентифицируются. Микробиом кишечника стал в последнее время актуальной темой биомедицинских исследований. За последнее десятилетие были получены доказательства связи нарушений состава кишечной микробиоты с широким спектром психоневрологических, иммунологических и аллергических заболеваний – от болезни Паркинсона и аутизма до диабета, бронхиальной астмы и целиакии [2, 3, 4].

Микробиота кишечника играет важную роль в иммунорегуляции, особенно при патологических состояниях. Так, обнаружено, что эффективность иммунотерапии опухолей ингибиторами конечной точки зависит от присутствия в кишечнике определенных микроорганизмов, которые способны при взаимодействии с макрофагами пейеровых бляшек направлять иммунный ответ преимущественно по пути Th1 типа [5].

Защитную роль интактной микробиоты кишечника и эффекты, развивающиеся при ее грубом повреждении, наглядно демонстрирует развитие инфекции *Clostridium difficile* на фоне терапии антибиотиками широкого спектра действия. Показано, что характер взаимодействия между факторами патогенности бактерий, особенностями генома хозяина и его иммунным ответом влияет на формирование фенотипа заболеваний, возникающих при инфицировании *Helicobacter pylori*. Предполагается, что ключевую роль в патогенезе играет особый механизм взаимодействия бактерий и иммунной системы хозяина, связанный с полиморфизмами генов NOD2/CARD15. Примечательно, что эти же полиморфизмы связаны

с болезнью Крона и с язвенным колитом. Одиночные нуклеотидные полиморфизмы в генах, кодирующих Toll-like рецептор 9, IL-6 и E-кадгерин (CDH1) связаны с постинфекционным синдромом раздраженного кишечника, что предполагает вовлечение в его патогенез аномального иммунного ответа и нарушение барьерной функции кишечника [6].

Выводы

Таким образом, исследование роли особенностей микробиоты разных компартментов организма и индивидуальных характеристик иммунорегуляции, определяемых набором SNP мутаций иммунорегуляторных молекул в патогенезе инфекционных заболеваний, онкологии и хронических воспалительных процессах является одним из перспективных направлений современной микробиологии.

Литература

1. Алексеева А.Е. Возможности и перспективы применения методов массового параллельного секвенирования в диагностике и эпидемиологическом надзоре за инфекционными заболеваниями / А.Е. Алексеева, Н.Ф. Бруснигина // Медиаль.– 2014. – №2 – с.14–24.
2. Russler-Germain E.V.. Antigen specific regulatory T cell responses to intestinal microbiota /E.V. Russler-Germain, S. Rengarajan, C.S. Hsieh // Mucosal Immunol. – 2017. - Vol.10 (6). – p. 1375–1386.
3. Vuong H.E.. The microbiome and host behavior / H.E. Vuong, J.M. Yano, T.C. Fung [and all] // Annu. Rev. Neurosci. - 2017. – Vol.40. – p. 21–49.
4. Quigley Eamonn M. M.. Microbiota-brain-gut axis and neurodegenerative diseases / Eamonn M. M. Quigley // Curr Neurol Neurosci Rep. – 2017. –Vol.17. – p. 94.
5. [Routy B.](#) The gut microbiota influences anticancer immunosurveillance and general health/ [B.Routy](#), [V.Gopalakrishnan](#), [R. Dailière](#) [et all] // [Nature Reviews Clinical Oncology](#). – 2018.– vol.15. – p. 382–396.
6. Marchesi J.R. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier / J.R. Marchesi, D.H Adams, F. Fava [et all] // [Gut](#). – 2016. – Vol.65(2). – p. 330–339.

РОЛЬ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ИММУННОГО РЕАГИРОВАНИЯ В РЕАЛИЗАЦИИ ОНКОГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА

Гумилевский Б.Ю., Гумилевская О.П., Киселева Т.А.

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

gumbu@mail.ru.

Ключевые слова: вирус папилломы человека, толл-подобные рецепторы, интерлейкины, иммунитет, урогенитальные инфекции.

INDIVIDUAL FEATURES OF THE IMMUNE RESPONSE IN IMPLEMENTATION THE ONCOGENIC POTENTIAL OF HUMAN PAPILLOMA VIRUS

Gumilevsky B.Yu., Gumilevskaya O.P., Kiseleva T.A.

Military Medical Academy. SM. Kirova, St. Petersburg, Russia

gumbu@mail.ru,

Key words: human papillomavirus, toll-like receptors, interleukins, immunity, urogenital infections.

Введение

Среди всех онкологических заболеваний у женщин четвертое место по распространенности в мире, согласно данным ВОЗ, занимает рак шейки матки (РШМ). Иницирующая роль в развитии цервикальной интраэпителиальной неоплазии принадлежит вирусу папилломы человека (ВПЧ), который, длительно персистируя в многослойном эпителии, создает предпосылки для неогенеза [1]. Учитывая тропность ВПЧ к многослойному плоскому эпителию, можно предположить, что в патогенезе хронизации ПВИ решающее значение имеют персональные особенности системы местной защиты органов репродуктивного тракта [2]. Индивидуальность противоинфекционного иммунитета во многом зависит от аллельного полиморфизма генов, кодирующих наиболее важные рецепторы клеток иммунной системы и вырабатываемые ими цитокины [3].

Формирование устойчивой иммунорезистентности против ВПЧ происходит во многом благодаря реакциям врожденной иммунной системы, опосредованным через Toll-like рецепторы (TLR), поэтому, аллельный полиморфизм генов TLR-рецепторов, может быть важным фактором в патогенезе формирования вариантов иммунорезистентности при ПВИ [4]. С другой стороны, установлено, что для элиминации ВПЧ важен баланс между Т-хелпер1 и Т-хелпер2 путями иммунного ответа, на который может влиять способность ВПЧ усиливать продукцию иммуносупрессорного IL-10, особенно при наличии определенных аллелей гена этого цитокина. Кроме того, состояние местного противовирусного иммунитета может угнетаться при наличии хронических уrogenитальных инфекций передаваемых половым путем (ИППП), которые могут быть как триггерным фактором, так и условием хронизации папилломавирусной инфекции. Поэтому, научный интерес представляет изучение роли генетически детерминированных особенностей иммунорезистентности и уrogenитальных инфекций в патогенезе хронизации папилломавирусной инфекции [5]. При этом, важна патогенетическая оценка связи аллелей полиморфных генов рецепторов врожденного иммунитета TLR-9 (G2848A и T-1237C), TLR-3 (Leu-412Phe) с вариантами течения ВПЧ инфекции и оценка патогенетической связи аллельных вариантов полиморфного гена цитокинов IL-10 (G-1082A и C-819T) и IL-28B (rs8099917 T>G) с хронизацией ВПЧ инфекции [6].

Материал и методы

В основу работы положены клинические и лабораторные данные, полученные при обращении пациенток в ГБУЗ «Михайловская центральная районная больница» Волгоградской области за период с 2012 по 2015 гг., под наблюдение были взяты женщины, из анамнеза которых известно наличие ВПЧ высокого онкогенного риска.

Для изучения распространенности ПВИ было обследовано 5479 женщин, обратившихся с жалобами со стороны мочеполовой системы или для проведения профилактического обследования. Для выявления ВПЧ 16, 18 типов проводили исследование соскоба со

слизистой шейки матки методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для оценки хронизации инфекции, обследованные с впервые выявленным ВПЧ (группа ВПЧ+), наблюдались на протяжении 3–5 лет с ежегодным исследованием на наличие вируса. По истечении периода наблюдения женщины были разделены на подгруппы: пациентки, у которых ВПЧ персистировал и обнаруживался весь период наблюдения (группа ВПЧ+/+) – 238 человек; пациентки, у которых за период наблюдения произошла элиминация вируса (группа ВПЧ+/-) – 144 человека. У всех женщин исследовали отделяемое влагалища и цервикального канала на наличие генитальных инфекций. Всем пациенткам провели цитологическое исследование мазков из шейки матки и анализ полиморфизма генов Toll-like рецепторов и цитокинов.

Материалом для лабораторного исследования являлись соскоб со слизистой оболочки цервикального канала и периферическая кровь пациенток, взятая утром натощак, в пробирки с антикоагулянтом 3% ЭДТА. Критериями включения в исследование являлись: 1) положительные результаты теста на присутствие вируса папилломы человека 16, 18 типов; 2) возраст обследуемых от 18 до 60 лет. Критерии исключения из исследования: 1) беременность, лактация; 2) онкологические заболевания. Все пациентки дали добровольное информированное согласие на участие в научном исследовании.

Выявление ДНК инфекций, передаваемых половым путем (*Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma species*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Cytomegalovirus*, *Gardnerella vaginalis*, *Candida albicans*) проводили методом полимеразной цепной реакции наборами реагентов «АмплиСенс» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, ООО «ИнтерЛабСервис», Москва). С целью оценки клеточного состава и выявления атипичных клеток провели цитологическое исследование мазков с шейки матки у обследуемых женщин. Окрашивание препаратов производилось по методу Паппенгейма, интерпретация результатов осуществлялась согласно международной классификации Бетесда. Генотипирование полиморфизмов Toll-like рецепторов (TLR 9 (T-1237C и G2848A), TLR 3 Leu-412Phe) и цитокинов (IL28 rs8099917 T>G и IL-10 (G-1082-A и C-819 T)) проводили методом ПЦР с аллель-специфичными праймерами производства НПО «Литех» (Россия). Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием двустороннего точного критерия Фишера и критерия χ^2 . Критерием статистической значимости различий считали величину $p < 0,05$.

Результаты

Вирус папилломы человека 16 и 18 типов обнаруживался у 13,8% женщин Волгоградской области. При этом за три года наблюдения клиренс вируса произошел у 41,8% женщин, персистенция инфекции отмечалась у 58,2%. Цитологическое исследование соскобов со слизистой оболочки шейки матки было проведено 382 ВПЧ-положительным пациенткам (группа ВПЧ+). Результаты цитологического исследования, соответствующие норме, были выявлены у 80,31% обследованных; плоскоклеточные интраэпителиальные поражения низкой степени тяжести (L-SIL) выявлены у 1,55% пациенток; тяжелые интраэпителиальные поражения – у 13,47% пациенток, атипичные клетки железистого эпителия были обнаружены у 0,52% женщин. Мазки неопределенного значения ASC-US выявлены у 4,15% пациенток с ВПЧ высокого онкогенного типа.

Установлено, что сопутствующие генитальные инфекции встречались одинаково часто при различных вариантах течения ПВИ, общее распределение инфекционных агентов по количеству выявления не отличалось у пациенток группы ВПЧ+/+ и ВПЧ+/-.

Анализ микробных ассоциаций с цитологическими изменениями эпителия шейки матки показал, что у пациенток с персистирующей ПВИ достоверно чаще выявлялась дисплазия при наличии сопутствующей инфекции (69,6%), по сравнению с пациентками, у которых ВПЧ элиминировал (37,5%) ($p < 0,0001$). При выраженных интраэпителиальных поражениях (H-SIL) микробные ассоциации выявлялись у 70% женщин в группе ВПЧ+/+, что значимо выше, чем в группе ВПЧ+/- – у 28,6% пациенток ($p = 0,001$).

Исследование роли вариабельности факторов иммунного ответа в патогенезе ПВИ у женщин позволило выявить следующие закономерности: при персистирующей ВПЧ-инфекции частота встречаемости мутантной гомозиготы AA гена TLR-9 в позиции -2848 выше, чем у женщин без ВПЧ. Аллель Phe и генотип Phe/Phe гена TLR-3 (Leu412Phe) преобладал у женщин с персистирующей ВПЧ. Гетерозиготное носительство мутантной аллели гена IL-10 (G-1082A) у пациенток с персистирующей ВПЧ встречалось значимо чаще, чем у женщин без ВПЧ.

Выводы

Хронизация ВПЧ или клиренс от вируса за период наблюдения не были связаны с наличием определенной генитальной инфекцией или группой инфекционных возбудителей. Однако, сопутствующие генитальные инфекции могут создавать условия для проявления неопластического потенциала ВПЧ.

Исход острой ПВИ во многом определяется индивидуальными особенностями противовирусного иммунитета, связанными с мутациями иммунорегуляторных генов и генов рецепторов иммунокомпетентных клеток, обеспечивающих первичное распознавание паттернов.

Литература

1. Krzowska-Firych, J. An overview of Human PapIL-lomavirus (HPV) as an etiological factor of the anal cancer / J. Krzowska-Firych, G. Lucas, C. Lucas [et al.] // J. Infect. Public Health. – 2019. – Vol. 12, № 1. – P. 1–6.
2. Dilthey A.T. High-accuracy HLA type inference from whole-genome sequencing data using population reference graphs / A.T. DIL-they, P.A.Gourraud, A.J. Mentzer // PLoS Comput Biol. – 2016. – Vol. 12. – P. e1005151.
3. Semlali, A. Toll-like receptors gene polymorphism and susceptibIL-ity to cancer development genetic diversity and disease susceptibIL-ity / A. Semlali, R. Alnemari, E. Almalki // Intechopen – 2018. – P. 57–72.
4. Nunes, R.A. Innate immunity and HPV: friends or foes / R.A. Nunes, M.G. Morale, G.A. SIL-va // Clinics. – 2018. – Vol. 73. – P. e549.
5. Скиданенко-Левина, О.В. Полиморфизм гена интерлейкина-10 и предрасположенность к прогрессированию папилломавирусной инфекции у женщин г. Томска / О.В. Скиданенко-Левина, А.Ш. Махмутходжаев // Врач-аспирант. – 2013. – Т. 60, №5(1). – С. 147–151.
6. Зыкова, Т.А. Распространенность, вирусная нагрузка и типовое разнообразие ВПЧ высокого онкогенного риска среди больных с воспалительными и опухолевыми заболеваниями / Т.А. Зыкова [и др.] // Медицинский вестник Юга России. – 2018. – № 1 (9). – С. 42–50.

ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДЕЛОВОЙ ИГРЫ В ПРЕПОДАВАНИИ ДИСЦИПЛИНЫ «МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ»

Дутова С. В., Саранчина Ю. В.

ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», г. Абакан, Россия

coluria@mail.ru

Ключевые слова: деловая игра, интерактивные методы обучения, микробиология, вирусология.

BUSINESS GAME EXPERIENCE IN TEACHING DISCIPLINE «MICROBIOLOGY, VIROLOGY»

Dutova S.V., Saranchina Yu.V.

«Khakass state University named after N.F. Katanov», Abakan, Russia

coluria@mail.ru

Keywords: business game, interactive teaching methods, microbiology, virology.

Введение

Серьезным недостатком обучения в российских ВУЗах является слабая практическая ориентированность получаемых будущими специалистами знаний. Использование интерактивных методов обучения, в том числе учебной деловой игры, позволяет сформировать у студентов профессиональные компетенции, развивает познавательный интерес, активизирует учебную деятельность [1, 2]. Кроме того, использование учебной деловой игры позволяет решить проблему отсутствия лицензии в микробиологических лабораториях ВУЗа на культивирование микроорганизмов.

Материал и методы

В учебном плане по программе специалитета 31.05.01 «Лечебное дело» для освоения раздела «Частная микробиология, вирусология» дисциплины «Микробиология, вирусология» отводится 69 часов, из них 29 часов на проведение лабораторных занятий. Объем теоретического материала очень большой, предусмотрено изучение 7 тем.

Для проведения лабораторных занятий по разделу «Частная микробиология, вирусология» авторами были разработаны ситуационные задачи в 7 вариантах по каждой из 7 изучаемых тем. Задачи были составлены таким образом, чтобы по клиническим симптомам было сложно поставить диагноз и студентам приходилось планировать и проводить микробиологическую диагностику инфекционного заболевания. При решении задач им необходимо было привлекать теоретические знания и полученные ранее умения (микроскопирования, описания морфологии колоний, выбора противомикробных лекарственных препаратов по данным чувствительности микроорганизмов). Кроме того, процесс решения ситуационных задач предполагал наличие у студентов знаний о профилактике распространения инфекционных заболеваний и необходимости взаимодействия с другими организациями (Центрами гигиены и эпидемиологии).

Исследование эффективности использования деловой игры в изучении раздела «Частная микробиология, вирусология» было проведено на базе Медико-психолого-социального института ХГУ им. Н. Ф. Катанова в ноябре 2018 г. в двух подгруппах студентов 3 курса, обучающихся по специальности «Лечебное дело»: ЛД-31-1 (контрольная группа) и ЛД-31-2 (экспериментальная группа). Было проведено три этапа

экспериментальной работы: констатирующий, формирующий, контрольный. Целью констатирующего этапа эксперимента стало определение исходного уровня теоретических знаний и сформированности профессиональных компетенций у студентов по теме «Возбудители зоонозных и особо опасных инфекций» с помощью тестирования. Тест (входной контроль) содержал 20 тестовых заданий закрытого типа. На формирующем этапе исследования в экспериментальной группе была проведена деловая игра, в контрольной группе занятие было проведено в традиционной форме путем устного разбора материала. На контролирующем этапе исследования в группах было проведено повторное тестирование (20 тестовых заданий закрытого типа), позволяющее скорректировать знания и практические умения студентов. На констатирующем и контролирующем этапе результаты эксперимента оценивали долей правильных ответов студентов на задания теста (результаты представлены в виде относительных частот, %). На формирующем этапе знания и сформированность компетенций оценивали по 15-балльной системе, результаты представлены в виде медианы с квантилями. Достоверность различия между данными контрольной и экспериментальной групп оценивали с помощью критерия Хи-квадрат Пирсона (доля правильных ответов, %) и критерия Манна-Уитни (баллы).

Результаты исследования

В процессе проведения лабораторного занятия в экспериментальной группе соблюдали наличие всех структурных элементов деловой игры.

1. Комплект ролей: студенты подгруппы разделялись на рабочие группы по 2 человека. В каждой рабочей группе выделялся 1 студент, осуществляющий функции врача-терапевта и 1 студент, осуществляющий функции врача – сотрудника микробиологической лаборатории. Преподаватель осуществлял функцию проведения исследования и выдачи результата врачу-микробиологу после того, как он четко сформулирует название и условия проведения исследования.
2. Предмет игры: студентам выдавали текст ситуационной задачи, пустые бланки для направления биоматериала на исследования в рамках микробиологической диагностики и бланки для оформления результатов исследования.
3. Сценарий игры, правила игры: обсуждался алгоритм действий и модель взаимодействия участников деловой игры, система оценивания.

Врач-терапевт в процессе деловой игры должен был поставить предварительный диагноз, провести выбор биоматериала для проведения микробиологического исследования, оформить направления для исследований, оценить результаты исследований, уточнить диагноз, назначить противомикробную терапию и специфическое лечение иммунобиологическими лекарственными препаратами, распорядиться о проведении профилактических мероприятий (при необходимости). Врач-микробиолог должен был принять биоматериал и направления на исследования, составить подробную схему микробиологической диагностики, перечень необходимых исследований, оценить их результаты, ответить на поставленные врачом-терапевтом вопросы, оформить заключение. Роль преподавателя заключалась в контроле процесса деловой игры, выдаче результатов (микропрепараты, посевы микроорганизмов, фотографии колоний и микропрепаратов, результаты биохимических тестов, иммунохимических реакций, полимеразной цепной реакции, определения чувствительности к противомикробным препаратам). В заключение студенты оформляли в тетради протокол занятия с заполненными бланками направлений,

схемами патогенеза и микробиологической диагностики заболевания и делали краткий устный доклад о ходе исследования.

Результаты оценки эффективности применения деловой игры приведены в таблице 1. В экспериментальной группе достоверно увеличилась доля правильных ответов при тестировании и оценка теоретических знаний и сформированности компетенций. В процессе проведения деловой игры было отмечено, что студенты с большим интересом включаются в процесс, кропотливо оформляют бланки направлений, радуются успешному и быстрому решению задач. Немаловажно, что в процессе решения ситуационных задач они понимают значимость теоретических знаний, просят дополнительный справочный материал, используют материал лекций (презентации). Особый интерес студенты проявляют при решении вопросов профилактики распространения инфекции.

Таблица 1

Эффективность проведения лабораторного занятия в форме деловой игры

Группа студентов	Доля правильных ответов на вопросы теста, %		Оценка теоретических знаний и компетенций на формирующем этапе, баллов (15 баллов максимум)
	на констатирующем этапе	на контрольном этапе	
контрольная	76	80	9,0 (9,0÷12,0)
экспериментальная	75	95	13,5 (12,0÷15,0)
<i>достоверность различия, p</i>	<i>1,0</i>	<i>0,002</i>	<i>0,002</i>

Разработанный подход к освоению теоретических знаний и формированию компетенций студентов специальности «Лечебное дело» содержит признаки и дидактические свойства деловой игры:

1. имеется в наличии важная проблема, требующая для своего разрешения моделирования профессиональной деятельности специалистов – оперативной постановки диагноза инфекционного заболевания и принятия мер по профилактике распространения инфекции;
2. присутствует общая цель для всего игрового коллектива – идентификация возбудителя и назначение рационального лечения. Каждому участнику игры предоставлена возможность влияния своими действиями на достижение конечного результата, последовательно выполняя конкретную задачу (этапы микробиологического исследования);
3. участники деловой игры вынуждены принимать решения в условиях информационной неопределенности (неизвестен возбудитель заболевания) и ограниченности во времени (на решение ситуационной задачи отводится 45–50 мин);
4. участники деловой игры в процессе решения ситуационной задачи последовательно (согласно самостоятельно разработанной схемы диагностики) принимают и реализуют решения, каждое из которых зависит от решения, принятого данным участником на предыдущем этапе, и от действий других участников;
5. система оценивания участников деловой игры подразумевает объективность в отношении личного вклада каждого участника игры. В случае неправильного

решения ситуационной задачи неудовлетворительную оценку (что сопровождается пересдачей темы) получают все участники, что стимулирует студентов действовать «как в жизни», на пределе своих интеллектуальных возможностей; подчинить в случае необходимости интересы того или иного участника игры общей цели коллектива (у некоторых студентов возникает побуждение просто «угадывать» возбудителя, что приводит к изменению схемы диагностики и в конечном итоге – к нехватке времени для решения задачи).

Выводы

Использование учебной деловой игры является эффективным методом проведения лабораторных занятий по разделу «Частная микробиология, вирусология» дисциплины «Микробиология, вирусология», способствует более полному формированию профессиональных компетенций у студентов-медиков.

Литература

- 1) Гущин Ю.В. Интерактивные методы обучения в высшей школе. // *Психологический журнал Международного университета природы, общества и человека «Дубна»*. 2012; 2: 1–18.
- 2) Маркова Н.А. Использование деловой игры при подготовке студентов-экономистов. // *Вестник ПНИПУ. Социально-экономические науки*. 2012; 6 (41): 151–159.

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ВАКЦИНЫ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

Епанчинцев А.А., Колтунов А.А., Гаврилова М.А., Теплова Н.В., Бакулева Н.В., Коновалова О.В., Шкуратова О.В., Дьяконова Е.В., Шарова О.И., Учуватова Е.В.

Филиал АО «НПО «Микроген» «НПО «Вирион», г. Томск, РФ

a.a.epanchintsev@microgen.ru

Ключевые слова: вакцина клещевого энцефалита, линия клеток Vero.

IMPROVEMENT IN PRODUCTION TECHNOLOGY OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS VACCINE

Epanchintsev A.A., Koltunov A.A., Gavrilova M.A., Teplova N.V., Bakuleva N.V., Konovalova N.V., Shkuratova O.V., Diakonova E.V., Sharova O.I., Uchuvatova E.V.

a.a.epanchintsev@microgen.ru

Keywords: tick-borne encephalitis vaccine, Vero cell culture.

Введение

Проблема заболеваемости клещевым энцефалитом (КЭ) остается актуальной для здравоохранения РФ. Одним из основных средств защиты от клещевого энцефалита является вакцинация населения.

На российском рынке имеются четыре взаимозаменяемые вакцины для профилактики КЭ, произведенные с использованием первично-трипсинизированной клеточной культуры [1]. Разработанная в НПО «Вирион» усовершенствованная технология производства вакцины КЭ предполагает использование в качестве субстрата перевиваемой клеточной линии *Vero*, рекомендованной ВОЗ для производства вирусных вакцин [2].

Материал и методы

Для производства вакцины использованы аттестованные главный и рабочий банки линии *Vero*. В качестве вакцинного штамма использовался штамм вируса клещевого энцефалита «205», депонированный в государственной коллекции ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». Технология производства разработана в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи РФ. Контроль качества препарата выполнен по ФС.3.3.1.0031.15 [3].

Результаты

Производство вакцины организовано в соответствии с требованиями национальной и европейской фармакопеи, основано на использовании системы банков вирусного посевного материала и банков культуры клеток *Vero*.



Рис. 1. Технологическая схема производства вакцины ВероКСЭН

Технологическая схема производства препарата состоит из нескольких этапов:

1. Приготовление и контроль главного и рабочего вирусного посевного материала.

Вирус, содержащийся в готовой вакцине, представляет собой последовательные пассажи от главного посевного материала: двукратно через мозг мышей и трехкратно в культуре клеток. Таким образом, ведение производственного штамма соответствует требованиям Государственной фармакопеи – «от исходного штамма до получения посевного материала для заражения культуры клеток должно быть проведено не более 5 пассажей через мозг нелинейных мышей» и требованию EuPh – не менее двух пассажей в культуре клеток.

2. Подготовка и ведение субстрата для культивирования вируса – культуры клеток *Vero*.

Культуру клеток используют в системе аттестованных главного и рабочего банков клеток. Для культивирования вируса из рабочего банка клеток субстрат масштабируют в клеточных фабриках и получают производственную культуру клеток *Vero*.

3. Культивирование вируса – подготовка и контроль посевного вируса для заражения производственной клеточной культуры.

Для получения технологической серии вирусного сбора – используют посевной вирус, представляющий собой пассаж вируса рабочего посевного материала в культуре клеток, что обеспечивает выполнение требований Европейской фармакопеи 8.0 к культивированию вируса.

4. Инактивация вирусной взвеси формальдегидом.

5. Приготовление объединенной инактивированной вирусной взвеси: обработка инактивированной вирусной взвеси протаминсульфатом, центрифугирование и фильтрация.

6. Приготовление очищенного концентрата вакцины: концентрирование и очистка методом гель-хроматографии.

7. Приготовление сорбированного полуфабриката вакцины: стабилизация активного компонента полуфабриката вакцины ЧСА и сахарозой, сорбция.

8. Получение готовой формы вакцины: розлив в первичную упаковку, маркировка и упаковка препарата.

Производственный процесс обеспечивает соблюдение правил организации производства и контроля качества лекарственного препарата, необходимый уровень биологической безопасности для работы с микроорганизмами II групп патогенности (опасности).

Обсуждение и выводы

Уровень накопления вирусного белка 1/3200 в ИФА тест-системе «ВектоВКЭ-антиген» более чем на порядок превышает ранее описанный для линии Vero (1/128–1/256 в той же тест-системе) [4]. Разработанный метод контроля ДНК клеток хозяина с помощью РТ-ПЦР подтвердил снижение остаточной ДНК Vero до безопасных уровней – не более 10 нг/доза.

Проведенные доклинические исследования острой, хронической, репродуктивной токсичности продемонстрировали, что вакцина не обладает токсическим действием и не имеет противопоказаний для проведения клинических исследований. Исследование специфической активности вакцины, в аккредитованной лаборатории ОКК НПО «Вирион», подтвердило достаточный уровень ее иммуногенности по критериям, предписанным Государственной Фармакопеей XIV РФ. В настоящее время ведется подготовка к проведению КИ вакцины ВероКСЭН.

Литература

1. Т.Э. Ильченко, Г.П. Билалова, Н.Х. Ставицкая, Р.Г. Соляник, Л.Д. Быстрицкий, И.В. Красильников. Вакцина «Энцефир» современный препарат для профилактики клещевого энцефалита. Сибирский медицинский журнал. – 2009. – №2. – 50–55.
2. Пат. 2678431 Российская Федерация, Способ получения вакцины клещевого энцефалита. Колтунов А.А., Стронин О.В., Епанчинцев А.А., Гаврилова М.А., Теплова Н.В., Бакулева Н.В., Коновалова О.В., Шкуратова О.В., Дьяконова Е.В., Шарова О.И., Учуватова Е.В. Опубл. 29.01.2019.
3. Вакцина клещевого энцефалита культуральная очищенная концентрированная инактивированная жидкая сорбированная или сухая в комплекте с растворителем алюминия гидроксида ФС.3.3.1.0031.15. – Государственная фармакопея Российской Федерации. Изд. XIV. – Т. 3.
4. О.В. Морозова, А.Е. Гришечкин, В.Н. Бахвалова, Е.И. Исаева, Р.Я. Подчерняева. Динамика репродукции вируса клещевого энцефалита в культурах клеток. // Вопросы вирусологии. – 2012. – 40–43.

ХАРАКТЕРИСТИКА РЕГУЛЯТОРНОГО ПОТЕНЦИАЛА БИФИДОБАКТЕРИЙ В КИШЕЧНОМ МИКРОБИОЦЕНОЗЕ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ

Захарова Ю.В., Леванова Л.А.

Кемеровский государственный, медицинский университет, г. Кемерово, Россия

micro@kemsma.ru

Ключевые слова: бифидобактерии, микробиоценоз, колонизационная резистентность.

REGULATORY POTENTIAL CHARACTERISTIC OF BIFIDOBACTERIA IN THE HIV-INFECTED CHILDREN INTESTINAL MICROBIOCENOSIS

Yulia V. Zakharova, Lyudmila A. Levanova

Kemerovo State Medical University, Russian Federation

micro@kemsma.ru

Keywords: bifidobacteria, microbiocenosis, colonisation resistance

Введение

Одним из главных резидентов кишечного микробиоценоза является бифидофлора, которая активно поддерживает гомеостатическое состояние человека. Положительные функции бифидобактерий обусловлены комплексом структурно-физиологических особенностей, которые позволяют им регулировать качественный и количественный состав кишечной микробиоты, иммунологическую резистентность макроорганизма, активно участвовать в биосинтетических процессах [1]. В настоящее время выдвинута новая теория развития оппортунистических инфекций у ВИЧ-инфицированных людей – «гипотеза нарушенной микрофлоры», согласно которой основным фактором, запускающим развитие таких инфекций, является снижение колонизационной резистентности кишечника в отношении микробов-оппортунистов [2]. Микрoэкологические нарушения вне зависимости от причин, которые их вызвали, имеют сходный характер и как правило характеризуются снижением числа доминантных микросимбионтов и увеличение интенсивности колонизации слизистой условно-патогенными бактериями и грибами. В процессе формирования ассоциативных сожительств микроорганизмов меняются их биологические свойства, что делает актуальным дифференцированный выбор принципов и средств коррекции микрофлоры кишечника у ВИЧ-инфицированных детей [3].

Материал и методы

Изучен микробиоценоз кишечника у 75 детей с ВИЧ-инфекцией IIв (36%), IIIа (64%) стадией, и у 45 детей ВИЧ-негативных. Средний возраст сравниваемых групп составил $2,3 \pm 0,2$ года. Исследования кишечного микробиоценоза проводили в соответствии с общепринятыми методиками [4]. Адгезивные свойства микроорганизмов изучали согласно методике В.И. Брилиса (1986). Оценку результатов опыта вели по индексу адгезивности микроорганизмов (ИАМ). Микроорганизмы считали неадгезивными – от 1,76 до 2,5; среднеадгезивными – от 2,51 до 4,0 и высокоадгезивными – при ИАМ $\geq 4,0$. Активность кислотообразования бифидобактерий определяли титрометрическим методом.

Антагонистическую активность микроорганизмов изучали методом перпендикулярных штрихов на плотной питательной среде.

Для статистического анализа использовали пакет прикладных программ Statistica (версия 6.1 лицензионное соглашение ВХХР 006ВО92218 FAN 11). Статистическая обработка информации строилась с учетом характера распределения данных, который определяли с помощью построения гистограмм. В связи с тем, что характер распределения данных не соответствовал нормальному, для статистической обработки применяли непараметрические критерии оценки статистической значимости. Для определения значимости различий между двумя несопряженными совокупностями использовали критерий Манна-Уитни и критерий χ^2 . Для анализа связей между колонизационным уровнем бактерий и их адгезивной активностью применяли коэффициент корреляции рангов Спирмена. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимался равным 0,05.

Результаты

Результаты проведенных исследований показали, что среди бифидобактерий, выделенных от детей с ВИЧ-инфекцией, преобладали штаммы со средней или низкой адгезивной активностью, доля которых в структуре бифидобактерий составила 81,2%. В группе сравнения таких культур было только 44,4%, а 55,6% проявляли высокую способность к адгезии ($\chi^2=7,1$; $df=2$; $p=0,04$). Установлено наличие прямой корреляционной связи между показателем специфической адгезии и интенсивностью колонизации слизистой кишечника бифидобактериями ($r=0,57$; $p=0,001$). Чем выше показатель специфической адгезии, тем более высокого количественного уровня достигает бифидофлора. Так у детей с ВИЧ-инфекцией количественный уровень бифидобактерий составил $7,2 \pm 0,4$ против $9,2 \pm 0,2$ lg КОЕ/г в группе сравнения ($p=0,005$).

При изучении способности бифидобактерий к продукции кислот, образующихся при ферментации углеводов, установлено, что бифидобактерии у ВИЧ-инфицированных детей проявляли среднюю (53,7%) или низкую (31,5%) способность к кислотообразованию. Бифидобактерии, выделенные от ВИЧ-негативных детей, характеризовались средней (59,52%) и высокой (40,47%) кислотообразующей способностью. Несмотря на более низкий уровень продукции органических кислот бифидобактериями ВИЧ-инфицированных детей антагонистическая активность не отличалась от аналогичного показателя в группе сравнения и составила $72,7 \pm 2,7$ против $84,8 \pm 3,1$ на 100 культур соответственно ($p=0,08$). Однако бифидофлора у детей с ВИЧ-инфекцией чаще проявляла антагонизм не к условно-патогенным бактериям, а к факультативно-анаэробной индигенной микрофлоре: к *Escherichiacolilac*+ (38,2%) и *Enterococcusfaecalis* (24,6%). У детей группы сравнения антагонистические взаимоотношения формировались, прежде всего, с условно-патогенными представителями микробиоценоза: *Klebsiellaspp.* (42,3%) и *Staphylococcusspp.* (36,4%) ($\chi^2=17,12$; $df=2$; $p=0,03$). Полученные данные свидетельствуют об ослаблении регулирующей функции бифидофлоры у ВИЧ-инфицированных детей на всех представителей кишечного микробиоценоза и сохранении ее только в отношении индигенных представителей.

Обсуждение

Проведенные исследования показали, что в основе нарушений колонизационной резистентности у ВИЧ-инфицированных детей лежит снижение адгезивной активности, а также кислотообразования у бифидобактерий. Нарушение способности к адгезии не позволяет бифидофлоре достичь необходимого популяционного уровня, что ведет к

снижению их содержания в кишечнике. Кроме того бифидобактерии утрачивают способность регулировать численность условно-патогенных микроорганизмов в биотопе за счет снижения антагонистической активности. Более того они начинают проявлять антагонизм по отношению к доминантным микросимбионтам – к типичным кишечным палочкам и фекальным энтерококкам. В связи с этим страдает популяционный уровень этих бактерий, что еще в большей степени приводит к нарушению колонизационной резистентности. В итоге «порочный круг» замыкается, в кишечном биотопе развиваются стойкие микробиологические нарушения. Микробы-оппортунисты достигают высокого популяционного уровня и начинают экспрессировать факторы вирулентности, имеющие патогенетическое значение в развитии вторичных бактериальных и грибковых инфекций, которые нередко являются причиной смертельных исходов ВИЧ-инфицированных пациентов.

Выводы

Таким образом, полученные данные о механизмах развития микробиологических нарушений при ВИЧ-инфекции могут быть основой для разработки способов и средств коррекции кишечного микробиоценоза у ВИЧ-инфицированных пациентов и предупреждения развития вторичных бактериально-грибковых инфекций.

Литература

1. Дисбиоз кишечника. Значение нормальной микробиоты кишечника в организме человека / Л. А. Тетерина, Е. М. Приходько, П. В. Селиверстов и др. // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. 2016, № 1–2, С. 15–18.
2. Alberto Novaes Ramos Jr, Luiza Harunari Matida, Carlos Henrique Alencar, Norman Hearst et.al. AIDS patient care and STDs. Mary Ann Liebert, Inc. 2011; 25(4): 176–223.
3. Захарова Ю.В., Марковская А.А., Леванова Л.А. и др. Характеристика бифидобактерий в микробиоценозе кишечника ВИЧ-инфицированных детей // Астраханский медицинский журнал. 2013, Т. 8, № 2, С. 48–54.
4. Об утверждении отраслевого стандарта «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» [Электронный ресурс]: приказ МЗ РФ № 231 от 9 июня 2003 г. // Консорциум Кодекс. Электронный фонд правовой и нормативно-технической документации. – URL.

ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ И ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ОСТРОГО КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

Ильинских Е.Н., Замятина Е.В., Ильинских Н.Н.

*ФГОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России,
Томск, Россия*

infconf2009@mail.ru

Ключевые слова: клещевой энцефалит, предикторы, интерфероны, интерлейкины, малоновый диальдегид, микроядра.

PROGNOSTIC CRITERIA AND FEATURES OF THE COURSE OF ACUTE TICK-BORNE ENCEPHALITIS

Plyinskikh E.N., Zamyatina E.V., Plyinskikh N.N.

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

infconf2009@mail.ru

Keywords: tick-borne encephalitis, predictors, interferons, interleukins, malonic dialdehyde, micronuclei.

Введение

Известно, что клещевой энцефалит (КЭ) может приводить к развитию очаговых форм (ОФ) с тяжелым поражением центральной нервной системы, высоким риском инвалидизации и летального исхода. Одной из современных направлений диагностики некоторых тяжело протекающих инфекционных заболеваний является разработка компьютерных диагностических алгоритмов и шкал для определения тяжести и прогнозирования исходов заболевания [1]. Одной из трудных проблем диагностики КЭ является раннее распознавание ОФ, которую в начале заболевания сложно дифференцировать от менингеальной формы (МФ) [2]. Потенциально для этих целей можно использовать показатели оценки активности окислительного стресса, продукции цитокинов лимфоцитами крови и микроядерного теста [3]. Установлено, что многие вирусные и бактериальные инфекционные заболевания, включая КЭ, сопровождаются индукцией повреждений ДНК и цитогенетическими нарушениями в различных типах соматических клеток [4]. Одним из основных механизмов, приводящих к интенсификации мутационных изменений ДНК при инфекционном процессе считается окислительный стресс, инициируемый провоспалительными цитокинами [5]. Установлено, что тяжесть течения КЭ и развитие наиболее тяжелой ОФ болезни тесно связано с активностью иммунопатологических и окислительных процессов [6].

Целью работы было выявить наиболее информативные клинико-эпидемиологические, иммунологические и цитогенетические критерии прогнозирования риска тяжелых клинических форм острого клещевого энцефалита в ранние сроки заболевания.

Материал и методы

Проведено ретроспективное клиническое исследование типа «случай-контроль» с анализом рутинных данных историй болезней 138 пациентов с подтвержденным диагнозом МФ и 26 больных ОФ острого КЭ. Все полученные данные были подвергнуты статистическому анализу с применением программного обеспечения Epi Info, версия 3.3.2 (США) и STATISTICA 12.0 (StatSoft, США) для создания диагностических моделей. Кроме того, в исследование было включено 22 больных ЛФ, 23 больных МФ, 15 больных ОФ КЭ, а также 22 здоровых человек (контрольная группа). У всех обследованных лиц определяли концентрацию малонового диальдегида (МДА) в крови и число клеток с микроядрами (МЯ) в цитологических препаратах с использованием двух типов тестов: анализ частоты бинуклеарных цитокинез-блокированных Т-лимфоцитов с МЯ в периферической крови и частоты клеток буккального эпителия с МЯ. Помимо этого, проведено определение спонтанных уровней продукции провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в супернатантах культур мононуклеарных клеток методом иммуноферментного анализа, включая интерфероны-альфа и -гамма (ИФ- α , ИФ- γ), фактора некроза опухоли-альфа (ФНО- α), интерлейкинов-4 и -10 (ИЛ-4 и ИЛ-10).

Результаты

Проведенное исследование позволило выделить наиболее прогностически значимые для ранней диагностики ОФ параметры объективного и неврологического статусов. К ним

можно отнести: возраст больного более 41 года, частоту пульса более 80 вмин, показатели систолического давления более 130 мм рт. ст., нарушение речи и сознания, функции черепных нервов, координации движений и исчезновение брюшных рефлексов. Кроме того, к числу дополнительных факторов существенно повышающих риск летального исхода при ОФ КЭ можно отнести наличие у больного сахарного диабета, гипертонической болезни, ишемической болезни сердца и ожирение.

Установлено, что к числу параметров, имеющих прогностическое значение для развития ОФ КЭ можно отнести: возраст больного старше 41 года, локализацию присасывания клеща в области головы и шеи, срок поступления больного в стационар после начала заболевания не ранее 8 дня, а также наличие таких сопутствующих заболеваний как сахарный диабет, гипертоническая болезнь и ишемическая болезнь сердца (ИБС). Установлено, что сахарный диабет регистрировался у $10,0 \pm 30,0$ % больных ОФ без летального исхода и только у $3,6 \pm 18,6$ % больных с МФ ($P < 0,01$). Гипертоническая болезнь и ИБС были диагностированы у $5,8 \pm 23,4$ % и $3,6 \pm 18,6$ % пациентов с МФ соответственно и у $20,0 \pm 40,0$ % и $50,0 \pm 21,8$ % больных ОФ ($P < 0,001$).

Анализ данных жалоб, объективного статуса у больных МФ и ОФ КЭ позволил установить, что «хорошее» качество раннего прогноза развития ОФ имел показатель систолического давления выше 140 мм рт. ст. (ОШ = $8,0(2,9-22,2)$, $\chi^2 = 19,9$, $P < 0,001$ AUC = $0,72$), «среднее» качество прогноза продемонстрировали такие предикторы, как диастолическое давление 90 мм рт. ст. (ОШ = $11,9(4,1-34,3)$, $\chi^2 = 28,5$, $P < 0,001$, AUC = $0,66$), тахикардия выше 90 в мин (ОШ = $26,0(8,9-75,4)$, $\chi^2 = 54,4$, $P < 0,001$, AUC = $0,63$), частота дыхательных движений более 20 в мин. (ОШ = $3,6(1,5-8,6)$, $\chi^2 = 9,0$, $P = 0,003$, AUC = $0,67$), а также повышение температуры тела в первые дни болезни выше $39,5^\circ\text{C}$ (ОШ = $5,4(2,2 - 13,3)$, $\chi^2 = 14,9$, $P < 0,001$, AUC = $0,62$).

Наиболее ранними прогностическими неврологическими симптомами ОФ КЭ, которые встречались как при тяжелой МФ, так и предшествовали очаговой симптоматике в случае ОФ, были дезориентация (ОШ = $16,3(5,7-46,4)$, $\chi^2 = 38,3$, $P < 0,001$), оглушенность (ОШ = $36,7(11,3-118,7)$, $\chi^2 = 56,9$, $P < 0,001$), спутанная речь (ОШ = $8,7(24,7-317,8)$, $\chi^2 = 90,9$, $P < 0,001$), симптомы Кернига (ОШ = $7,7(2,9 - 19,8)$, $\chi^2 = 21,7$, $P < 0,001$) и Брудзинского (ОШ = $3,4(1,4-8,1)$, $\chi^2 = 7,9$, $P = 0,005$), а также грубая ригидность затылочных мышц (ОШ = $4,9(1,7-13,6)$, $\chi^2 = 10,4$, $P < 0,001$) и рвота (ОШ = $9,9(3,5-28,2)$, $\chi^2 = 24,3$, $P < 0,001$).

Установлено, что высокую прогностическую силу для диагноза ОФ КЭ показали значения следующих показателей: МДА выше 6,0 мкмоль/л (ОШ = $13,3$, $\chi^2 = 9,3$, $P = 0,001$), ИФ- α ниже 20,0 пг/мл (ОШ = $6,3$, $\chi^2 = 6,7$, $P = 0,011$), ИФ- γ ниже 15,0 пг/мл (ОШ = $7,2$, $\chi^2 = 7,7$, $P = 0,006$), ИЛ-10 выше 28,0 пг/мл (ОШ = $7,2$, $\chi^2 = 7,7$, $P = 0,006$), ФНО- α выше 43,0 пг/мл (ОШ = $26,7$, $\chi^2 = 14,3$, $P < 0,001$), соотношения ФНО- α /ИЛ-4 больше 11,0 (ОШ = $5,7$, $\chi^2 = 6,1$, $P = 0,013$), частоты клеток буккального эпителия с МЯ более 6% (ОШ = $6,3$, $\chi^2 = 6,7$, $P = 0,011$) и частоты лимфоцитов с МЯ более 9% (ОШ = $18,3$, $\chi^2 = 11,7$, $P < 0,001$). С помощью бинарного логистического регрессионного анализа была разработана модель, которая имеет «отличное» качество прогноза развития ОФ (AUC = $0,95$, $P < 0,001$). У больных КЭ также выявлена прямая корреляционная зависимость между частотой клеток буккального эпителия с МЯ, лимфоцитов с МЯ и концентрацией МДА в сыворотке и/или продукцией ФНО- α ($r = 0,69$, $r = 0,62$ и $r = 0,58$, $r = 0,49$, $P < 0,001$).

Обсуждение и выводы

Таким образом, показана тесная взаимосвязь между активацией окислительного стресса, продукцией провоспалительных цитокинов и индукцией цитогенетических нарушений у больных КЭ. Установлено, что эпидемиологическими предикторами повышенного риска очаговой формы клещевого энцефалита являются: возраст старше 41 года, локализация укуса клеща в области головы и шеи, поздние сроки госпитализации более 7 дней после начала заболевания, а также наличие более двух фоновых соматических заболеваний, в особенности, сахарного диабета, гипертонической болезни и ИБС. Среди клиничко-лабораторных данных информативными ранними прогностическими критериями повышенного риска очаговой формы клещевого энцефалита являются тахикардия выше 90 в мин, частота дыхательных движений более 20 в мин, повышение температуры тела выше 39,5 °С, систолическое и диастолическое давление выше 140 и 90 мм рт. ст. соответственно, появление хотя бы одного из таких признаков, как оглушенность, дезориентация, спутанная речь, рвота, грубая ригидность затылочных мышц, а также симптомов Кернига и Брудзинского.

К наиболее значимым, ранним иммунологическим и цитогенетическим предикторам очаговой формы клещевого энцефалита относятся: повышение продукции в культуре мононуклеарных клеток ИЛ-10, ФНО- α , соотношения концентраций ФНО- α и ИЛ-4, а также увеличение содержания МДА в сыворотке крови и частоты встречаемости лимфоцитов крови и букальных клеток с микроядрами.

Литература

1. Tuan NM, Nhan HT, Chau NV, Hung NT, Tuan HM, Tram TV, Ha Nle D, Loi P, Quang HK, Kien DT, Hubbard S, Chau TN, Wills B, Wolbers M, Simmons CP. Sensitivity and specificity of a novel classifier for the early diagnosis of dengue. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015; 9(4). Available from: doi: 10.1371/journal.pntd.0003638
2. Толоконская Н.П., Спиридонова Э.А., Казакова Ю.В., Проворова В.В., Бурмистрова Т.Г. Клиничко-лабораторные аспекты ранней диагностики менингеальной и менингоэнцефалитической форм клещевого энцефалита. *Бюллетень Сибирской медицины*. 2008; 1: 12–19.
3. Bolognesi C, Fenech M. Micronucleus assay in human cells: lymphocytes and buccal cells. *Methods Mol. Biol.* 2013;1044: 191–207. Available from: doi: 10.1007/978-1-62703-529-3_10
4. Ryan EL, Hollingworth R, Grand RJ. Activation of the DNA damage response by RNA viruses. *Biomolecules*. 2016;6(1):2. Available from: doi: 10.3390/biom6010002
5. Tawadrous GA, Aziz AA, Amin DG, Eldemery A, Mostafa MA. RANTES, TNF- α , oxidative stress, and hematological abnormalities in hepatitis C virus infection. *Investig. Med.* 2012; 60(6): 878–882. Available from: doi: 10.2310/JIM.0b013e318254519e
6. Захарычева ТА. Оксидативный стресс у больных клещевым энцефалитом на Дальнем Востоке Российской Федерации. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии*. 2012; 20: 41–45.

ВОЗБУДИТЕЛИ ТРАНСМИССИВНЫХ ИНФЕКЦИЙ В КЛЕЩАХ *DERMACENTOR RETICULATUS*, СОБРАННЫХ В ГОРОДСКИХ БИОТОПАХ г. ТОМСКА

Карташов М.Ю.¹, Микрюкова Т.П.¹, Тупота Н.Л.¹, Романенко В.Н.², Москвитина Н.С.²,
Терновой В.А.¹, Локтев В.Б.¹

¹ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»

Роспотребнадзора, Новосибирск, Россия

²Томский государственный университет, Томск, Россия

mikkartash@yandex.ru

Ключевые слова: *Dermacentor reticulatus*, клещевые инфекции, *Rickettsia raoultii*, *Anaplasma phagocytophilum*, вирус клещевого энцефалита, городские биотопы, Томск

THE CAUSATIVE AGENTS OF VECTOR-BORNE INFECTIONS IN TICKS *DERMACENTOR RETICULATUS* COLLECTED IN TOMSK URBAN BIOTOPES

Kartashov M.Yu.¹, Mikryukova T.P.¹, Tupota N.L.¹, Romanenko V.N.², Moskvitina N.S.²,
Ternovoi V.A.¹, Loktev V.B.¹

¹SRC VB «Vector» Rospotrebnadzor, Novosibirsk, Russia

²Tomsk State University, Tomsk, Russia

mikkartash@yandex.ru

Keywords: *Dermacentor reticulatus*, tick-borne infection, *Rickettsia raoultii*, *Anaplasma phagocytophilum*, tick-borne encephalitis virus, urban foci, Tomsk.

Введение

В последнее время в биотопах многих городов России отмечается увеличение численности иксодовых клещей, изменение их видового состава и увеличение их инфицированности возбудителями клещевых инфекций. Как правило, клещи, заселяющие парки и скверы представляют особую опасность для городских жителей, которые не предпринимают специальных мер защиты от укусов клещей в черте города.

На протяжении многих лет клещи вида *D. reticulatus* в окрестностях г. Томска встречались только в небольшом количестве, чаще всего в городской пойме реки Томь. Осенью 2015 г. впервые был обнаружен участок с высокой численностью клеща этого вида на склонах высокого берега р. Томь, биотоп «Лагерный сад». В предшествующие годы *D. reticulatus* встречался в этом городском биотопе в учётах только в 2012 и 2014 гг., при этом средняя сезонная численность в эти годы составляла 0.17 особей/уч. км. В середине сентября 2015 г. численность *D. reticulatus* достигла уровня 42 особей/уч. км., а в 2016 г. до 66 особей/уч. км.

Цель исследования состояла в определении уровня инфицированности возбудителями инфекций, переносимых клещами (вирус клещевого энцефалита, вирус Кемерово, *Borrelia spp.*, *Rickettsia spp.*, *Coxiella burnetii*, *Anaplasma spp.*) *D. reticulatus*, отловленных в черте г. Томска, а также молекулярно-генетический анализ выявленных изолятов клещевых патогенов.

Материал и методы

Сбор клещей с растительности проводился в весенне-летние периоды 2016–2017 гг. на территории городского биотопа «Лагерный сад», расположенный на высоком берегу реки Томь в юго-западной оконечности г. Томска и представляющий собой один из самых крупных и посещаемых парков. В исследование вошла выборка из 315 клещей вида *D. reticulatus* (187 самок и 128 самцов). Принадлежность исследуемых клещей к виду *D. reticulatus* определяли морфологически с последующей верификацией путем определения нуклеотидной последовательности фрагмента гена цитохромоксидазы субъединицы I (*cox1*), локализованного в митохондриальном геноме клеща. Гомогенизацию полученных образцов осуществляли с использованием лабораторного гомогенизатора TissueLyserLT (Qiagen, Германия) в 300 мкл стерильного физраствора. Выделение нуклеиновых кислот производили из 100 мкл гомогената с использованием коммерческого набора «АмплиПрайм РИБО-преп» («НексБио», Россия) согласно инструкции производителя. Реакцию обратной транскрипции осуществляли с помощью набора реагентов «РЕВЕРТА-L 100» («ИнтерЛабСервис», Россия). Скрининг клещей на наличие генетического материала изучаемых патогенов проводили с помощью ПЦР, используя специфические праймеры. Генотипирование выявленных изолятов патогенов осуществляли путем определения соответствующих нуклеотидных последовательностей и их дальнейшего анализа. Секвенирование продуктов амплификации проводили методом Сэнгера на основе капиллярного электрофореза с помощью автоматического секвенатора 3130xl GeneticAnalyzer («AppliedBiosystems», США). Полученные нуклеотидные последовательности анализировали с использованием программного продукта UniproUGENE v. 1.32 и сравнивали с ранее опубликованными при помощи поискового приложения BLAST. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей исследуемых фрагментов генома проводили методом максимального правдоподобия с использованием модели эволюции Tamura-Nei в программе MEGA 7.

Результаты

Выявление *Rickettsia spp.* ДНК *Rickettsia spp.* была выявлена в 139 клещах, отловленных в 2016 г. Уровень инфицированности таким образом составил $44,1 \pm 2,7$ %. В 2017 г. аналогичный уровень инфицированности составил $48,1 \pm 4,3$ %. Достоверных различий в уровне инфицированности риккетсиями у самцов и самок клещей *D. reticulatus* установлено не было (в 2016 г. уровень инфицированности самок и самцов составил, соответственно, $45,4 \pm 3,6$ % и $42,2 \pm 4,2$ %; в 2017 г. соответствующий показатель у самок – $49,4 \pm 5,4$ %, у самцов – $46,1 \pm 6,8$ %).

Все выявленные изоляты риккетсий при генотипировании по фрагменту гена цитратсинтазы *gltA* (767 п.н.) были отнесены к *R. raoultii*. При сравнении нуклеотидных последовательностей данного локуса изучаемые изоляты оказались идентичными друг другу. Для определения полноразмерных нуклеотидных последовательностей маркерных генов нами был проведен дизайн олигонуклеотидных праймеров, основанный на доступных последовательностях *R. raoultii* в базе данных GenBank. В работе были получены полноразмерные нуклеотидные последовательности 5 маркерных генов: 16S рРНК (МК304546), *gltA* (МК304547), *ompA* (МК304548), *ompB* (МК304549), *geneD* (МК304550). На филогенетических деревьях, построенных по каждому из перечисленных генов, выявленные изоляты риккетсий кластеризуются в кладу, сформированную прототипными штаммами *R. raoultii*.

При анализе, проведенным по 5 маркерным генам, можно заключить, что изучаемые изоляты *R. raoultii* наиболее близки к изоляту Marne, выделенному на востоке Франции из клеща *D. reticulatus*, чем к изолятам, циркулирующим на близлежащих территориях (*R. raoultii* Elanda-23/95 – Алтай; Khabarovsk – Хабаровский край), но выделенных от клещей другого вида (*D. nuttalli* и *D. silvarum*, соответственно).

Выявление ВКЭ. Генетический материал ВКЭ был обнаружен в четырех образцах клещей, уровень инфицированности составил $0,9 \pm 0,5$ % в 2016 г. и $0,7 \pm 0,5$ % в 2017 г. ВКЭ был обнаружен как у самок (3 особи), так и у самцов (1 особь). При генотипировании выявленных изолятов ВКЭ по фрагменту гена E три изолята были отнесены к сибирскому субтипу ВКЭ, показав уровень гомологии на уровне 99,8 между собой и 98,5–99,0% с изолятами Lesopark 11 и Kemerovo-134-08, циркулирующими в соседних Новосибирской и Кемеровской областях. Один изолят был отнесен к дальневосточному субтипу ВКЭ, показав наибольшую гомологию на уровне 98,6% с изолятами Tomsk-PT12, Tomsk-PT14, Tomsk-M83, циркулирующими в Томской области.

Выявление *Anaplasma phagocytophilum*. В ходе исследования в двух образцах *D. reticulatus* была выявлена ДНК *A. phagocytophilum*. Уровень инфицированности за 2016 г. таким образом составил $0,6 \pm 0,4$ %. Нуклеотидные последовательности *groESL*-оперона двух изолятов оказались полностью идентичными друг другу. Уровень гомологии нуклеотидных последовательностей *groESL*-оперона выявленных изолята составил более 99 % с изолятами *A. phagocytophilum*, выделенными из клещей рода *Ixodes* на близлежащих территориях. Так нуклеотидная последовательность *groESL*-оперона изучаемого изолята отличается двумя нуклеотидными заменами от соответствующей последовательности изолята *A. phagocytophilum* Tomsk-Ipr1 (KF701460), выделенного нами ранее на территории Томской области из клеща *I. persulcatus*. Одна из нуклеотидных замен является несинонимичной и приводит к аминокислотному замещению T192→M.

Нам не удалось обнаружить генетический материал вируса Кемерово, *Borrelia spp.* и *Coxiella burnetii* в собранных клещах *D. reticulatus* в городском биотопе. Тем не менее, имеются сообщения об обнаружении генетического материала этих возбудителей в природных биотопах ряда регионов и стран. Так ДНК *Borrelia spp.* была обнаружена в клещах *D. reticulatus* в странах Восточной Европы. В России вирус Кемерово был обнаружен в клещах *D. reticulatus* в Курганской области. ДНК *Coxiella burnetii* была ранее обнаружена в клещах *D. reticulatus* на территории Великобритании, Германии, Нидерландов, Белоруссии. Представляется, что занос этих инфекционных агентов на городскую территорию также вполне вероятен.

Обсуждение и выводы

В настоящее время серологическими методами и выявлением ДНК возбудителя в крови больных подтверждена роль *R. raoultii* в качестве этиологического агента синдрома TIBOLA (tick-borne lymphadenopathy), который характеризуется первичным аффектом, окруженным эритемой и развивающимся в месте присасывания клеща, а также болезненностью ближайших лимфоузлов. У больных развивается астенический синдром, в четверти случаев наблюдается лихорадка. У большинства пациентов эритема сохраняется до 1–2 месяцев. Недавно генетический материал *R. raoultii* был выделен в клиническом материале от трех пациентов на территории Новосибирской области (Igolkina et al., 2018). Встречаются заболевания с атипичной клинической картиной, причем очень часто существующие тест-системы не выявляют риккетсиозы, вызываемые *R. raoultii*. Это позволяет предположить, что

синдром TIBOLA может стать новым инфекционным заболеванием для городских биотопов Томска с высоким уровнем встречаемости клещей *D. reticulatus*.

На данный момент в Томской области не зарегистрировано случаев заболевания гранулоцитарным анаплазмозом человека, вызываемым *A. phagocytophilum*. Однако циркуляция данного патогена в клещах на территории городских биотопов и значительное число укусов людей свидетельствует о возможности инфицирования горожан *A. phagocytophilum* с дальнейшим развитием заболевания.

Гранулоцитарный анаплазмоз человека, как и синдром TIBOLA, возможно, являются новыми инфекционными заболеваниями для Томска. Полученные данные подтверждают необходимость мониторинга циркуляции *R. raoultii* и *A. phagocytophilum* в природных очагах клещевых инфекций г. Томска и Томской области, дальнейшего совершенствования методов диагностики и профилактики этих инфекции, включая выявление возможных случаев заболевания человека в этом регионе.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВАРИАНТОВ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ (ЭПИДСЕЗОН 2018 г.)

**Карташов М.Ю., Акимова А.С., Кривошеина Е.И., Микрюкова Т.П., Терновой В.А.,
Локтев В.Б.**

*ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»
Роспотребнадзора, Новосибирск, Россия*
mikkartash@yandex.ru

Ключевые слова: вирус клещевого энцефалита, молекулярная эпидемиология.

GENETIC CHARACTERIZATION OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS VARIANTS CIRCULATING IN THE NOVOSIBIRSK REGION (EPIDEMIOLOGICAL SEASON 2018)

**Kartashov M.Yu., Akimova A.S., Krivosheina E.I., Mikryukova T.P., Ternovoi V.A.,
Loktev V.B.**

SRC VB «Vector» Rosпотребнадзор, Novosibirsk, Russia
mikkartash@yandex.ru

Keywords: tick-borne encephalitis virus, molecular epidemiology.

Введение

Клещевой вирусный энцефалит (КВЭ), несмотря на устойчивую тенденцию к снижению заболеваемости в Российской Федерации, остается одной из наиболее социально значимых природно-очаговых инфекций. На территории России природные очаги КВЭ существуют на Дальнем Востоке, в Сибири, на Урале и в европейской части страны. Актуальность изучения КВЭ сохраняется ввиду возможности развития тяжелых форм болезни, высокого удельного веса инвалидизации и ежегодно регистрируемых летальных исходов.

Новосибирская область (НСО) традиционно относится к регионам с неблагополучной эпидемиологической обстановкой по инфекциям, переносимых клещами. Согласно данным официальной статистики ежегодно в весенне-летние периоды в медицинские учреждения НСО по поводу укуса клеща обращаются до 20 тыс. человек, примерно четверть из которых дети. В 2018 г. НСО заняла пятое место среди всех регионов РФ по встречаемости КВЭ (было зарегистрировано 100 случаев КВЭ, три из которых закончились летальным исходом).

Цель исследования состояла в молекулярно-биологическом анализе вариантов КВЭ, циркулировавших на территории НСО в 2018 г.

Материал и методы

Материалом исследования являлась выборка 1000 иксодовых клещей, снятых с людей на территории НСО в эпидсезон 2018 г. (в период с мая по сентябрь). Видовую принадлежность исследуемых клещей определяли морфологически с последующим подтверждением путем определения нуклеотидной последовательности фрагмента митохондриального гена, кодирующего цитохромоксидазу *COI*. Гомогенизация клещей осуществлялась с использованием лабораторного гомогенизатора Tissue Lyser (Qiagen, Германия). Выделение нуклеиновых кислот производили из 100 мкл полученного гомогената с использованием набора «АмплиПрайм РИБО-преп» («НексБио», Россия) согласно инструкции производителя. Вирусную кДНК синтезировали с использованием набора «Реверта-Л» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия). Детекция генетического материала ВКЭ осуществлялась двухраундовой ПЦР с использованием двух пар праймеров, комплементарных фрагменту гена белка E. Секвенирование продуктов амплификации проводили по обеим цепям методом Сэнгера на основе капиллярного электрофореза с помощью автоматического секвенатора 3130xl Genetic Analyzer («Applied Biosystems», США). Анализ полученных нуклеотидных последовательностей проводили с использованием программы UniproUGENE v. 1.32. Прототипные штаммы ВКЭ были взяты из международной базы данных GenBank NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Выравнивание нуклеотидных последовательностей осуществляли с помощью алгоритма MUSCLE в программе MEGA7. Для построения филогенетического дерева использован метод максимального правдоподобия (Maximum Likelihood) с моделью эволюции Tamura-Nei. Вычисление индекса поддержки ветвей проводили для 500 итераций.

Результаты

Путем определения нуклеотидной последовательности фрагмента гена *coxI* митохондриального генома клещей нам удалось установить видовую принадлежность клещей, снятых с людей. Из 1000 исследованных клещей 107 были отнесены к виду *Ixodes persulcatus*, 436 – *Ixodes pavlovskyi*, 413 – *Dermacentor reticulatus*, 39 – *Dermacentor marginatus*, 5 – *Dermacentor nuttalli*.

Генетический материал ВКЭ был обнаружен в 36 образцах клещей, суммарный уровень инфицированности составил 3,6% (95% CI: 2,6–4,9). ВКЭ был изолирован из клещей видов *I. persulcatus*, *I. pavlovskyi*, *D. reticulatus*, *D. marginatus*. Уровень инфицированности клещей *I. persulcatus* составил 11,2 % (9,7–14,3), *I. pavlovskyi* – 1,8 % (0,9–3,5), *D. reticulatus* – 3,4% (2,1–5,6), *D. marginatus* – 5,1% (1,4–9,8).

Полученные в ходе работы нуклеотидные последовательности фрагмента гена E ВКЭ депонированы в международную базу данных GenBank под номерами MN187367–MN187402. Анализ нуклеотидных последовательностей выявленных изолятов ВКЭ позволил отнести 30 (83 %) к сибирскому генотипу, 6 (17 %) – к дальневосточному.

Обсуждение и выводы

Все исследованные последовательности оказались оригинальными и не имели 100% сходства с известными прототипами среди сибирских и дальневосточных вариантов ВКЭ. Наибольшее генетическое разнообразие демонстрирует кластер сибирских генотипов, отчетливо распадающийся на две субклады. Варианты одной субклады имеют наибольший уровень гомологии с прототипными штаммами Заусаев (AF52415) и Алтай-115 (JQ687276), другой субклады с прототипом Курган-371-07 (FJ214150). Новосибирские изоляты дальневосточного генотипа имеют наибольшее сходство с прототипным штаммом Приморье-69 (EU816453).

Генетическое разнообразие выявленных изолятов ВКЭ в клещах показывает, что ВКЭ длительный период времени эволюционировал в исследованных биотопах НСО, где сформированы природные очаги ВКЭ с доминированием сибирского генотипа. В работе показана циркуляция в НСО и дальневосточного генотипа ВКЭ.

Эпидемиологическая значимость широкого распространения дальневосточного генотипа ВКЭ связана с более высокой патогенностью дальневосточного генотипа для человека. Так, для вариантов ВКЭ дальневосточного генотипа, циркулирующих в Приморском крае, летальность может достигать более 30 %, тогда как европейские и сибирские геноварианты вызывают более легкую форму заболевания с низким уровнем летальности. Характерной особенностью сибирского геноварианта ВКЭ является его способность вызывать хронические формы клещевого энцефалита.

ОСНОВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ПРИРОДНЫХ И ГОРОДСКИХ ОЧАГОВ ХАНТАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Компанец Г.Г.^{1,2,3}

¹*Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова, г. Владивосток, Россия*

²*Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток, Россия*

³*Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины, г. Владивосток, Российская Федерация*

galkom1965@gmail.com

Ключевые слова: природный очаг, хантавирусы, ГЛПС, эпизоотические и эпидемиологические особенности.

THE MAIN MECHANISMS OF NATURAL AND URBAN FOCI OF HANTAVIRUS INFECTION FUNCTIONING

Kompanets G. G.^{1,2,3}

¹*G.P.Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation*

²*Far-Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation*

³*State Scientific-Research Test Institute of Military Medicine of Defense Ministry of the Russian Federation, Vladivostok, Russian Federation*

galkom1965@gmail.com

Keywords: naturalfocus, hantaviruses, HFRS, epizootic and epidemiological characteristics.

Введение

Хантавирусы (род *Orthohantavirus*, семейство *Hantavirales*) широко распространены по всему миру благодаря природным хозяевам: грызунам, насекомоядным, летучим мышам, у которых данная инфекция протекает хронически, бессимптомно, с периодическим выделением вируса в окружающую среду. В Российской Федерации хантавирусы вызывают геморрагическую лихорадку с почечным синдромом (ГЛПС), при этом наиболее тяжелые формы связаны с хантавирусами Dobrava (европейская часть страны) и Hantaan (дальневосточный регион), с показателями летальности, в отдельные годы достигающими 14–16% [1].

На функционирование природных и городских очагов хантавирусной инфекции, существенно влияют динамические процессы, происходящие в популяциях природных хозяев, связанные с абиотическими и биотическими факторами, приводящие к синхронности пространственно-временной динамики эпизоотической активности и неравномерности пространственно-временных характеристик эпидемического процесса ГЛПС [2].

Материалы и методы

Проведен ретроспективный анализ данных по инфицированности хантавирусами диких и синантропных грызунов, отловленных во время экспедиционных и стационарных исследований (1986-2018 гг.) на энзоотичных территориях Приморского края. Для изучения пространственно-временной связи между эпизоотической активностью в популяциях грызунов и заболеваемостью ГЛПС проанализировано 2638 случаев заболевания ГЛПС, серологически подтвержденных за период наблюдения. Обнаружение антигена и антител хантавируса проводили с помощью коммерческих наборов для иммуноферментного анализа и метода непрямой флюоресценции.

Результаты

В очагах совместной циркуляции установлены значимые различия многолетней популяционной динамики и активности эпизоотического процесса в популяциях грызунов – носителей хантавирусов с разной патогенностью для человека. В лесных биотопах отмечен более высокий потенциал популяции восточноазиатской мыши, носителя патогенного для человека геноварианта Amur вируса Hantaan, на всех этапах эпизоотического процесса характеризующийся статистически значимо более высокими показателями численности/инфицированности и тенденцией увеличения инфицированности, в сравнении с популяцией красно-серой полевки, хозяина геноварианта Hokkaido вируса Puumala, с пока неизвестной патогенностью.

В луго-полевых биотопах совместной циркуляции патогенного для человека геноварианта FarEast вируса Hantaan и непатогенного вируса Fuzong в популяциях природных носителей, занимающих одну экологическую нишу (полевая мышь и дальневосточная полевка), наблюдается аналогичная ситуация. На фоне практически синхронных подъемов численности и инфицированности популяций, связанных с одинаковыми условиями обитания, по показателям уловистости и инфицированности доминирует полевая мышь. Несмотря на то, что в последние годы отмечена статистически достоверная тенденция уменьшения эпизоотической активности в популяциях грызунов – носителей разных ортохантавирусов в луго-полевых биотопах, эпидемический потенциал полевой мыши остается высоким, что отражается в эпидемиологии ГЛПС.

В городском очаге Seoul-инфекции выявлена статистически значимая прямая корреляция между эпизоотической активностью в популяции основного хозяина – серой крысы и эпидемическими проявлениями ГЛПС.

Обсуждение и выводы

Выявленное отсутствие значимой тенденции заболеваемости ГЛПС в природных очагах за последние 30 лет наблюдения обусловлено снижением напряженности эпизоотического процесса, связанного с геновариантом FarEast вируса Hantaan, и одновременным ростом активности эпизоотий в популяциях восточноазиатской мыши – носителя геноварианта Amur в лесных биотопах.

Такая тенденция в изменениях эпизоотического/эпидемического потенциалов, в том числе, связана с хозяйственной деятельностью человека, приводящей к изменению/уменьшению кормовой базы и условий обитания диких грызунов, например, за счет изменения структуры сельскохозяйственной деятельности в крае, а также с фрагментацией мест обитания диких грызунов, что может приводить не только к резкому уменьшению их численности, но и к возможной их концентрации в местах с более доступной кормовой базой.

В то же время городской очаг хантавирусной инфекции представляет собой яркий образец антропургического очага, когда деятельность человека привела к созданию активного очага инфекции с четкой корреляцией между численностью/инфицированностью грызунов и заболеваемостью ГЛПС.

Полученные результаты могут использоваться для оптимизации слежения за эпидемической и эпизоотической ситуацией в природных и городских очагах хантавирусной инфекций и прогнозирования заболеваемости ГЛПС.

Литература

1. Морозов В.Г., Ишмухаметов А.А., Дзагурова Т.К., Ткаченко Е.А. Клинические особенности геморрагической лихорадки с почечным синдромом в России // Медицинский совет. – 2017. – № 5. – С. 156-161.
2. Слонова Р.А., Кушнарева Т.В., Максема И.Г., Компанец Г.Г. Иунихина О.В. Сопряженность эпидемического процесса хантавирусной инфекции с активностью эпизоотического процесса в популяциях мышей рода *Apodemus*. // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2012. – № 3. – С. 18–22.

ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ КЛЕБСИЕЛЛ И ИХ ЗНАЧЕНИЕ В ФОРМИРОВАНИИ ДИСБИОТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА

Леванова Л.А., Марковская А.А.

Кемеровский государственный, медицинский университет, г. Кемерово, Россия

micro@kemsma.ru

Ключевые слова: клебсиеллы, факторы патогенности, микробиоценоз, дисбиоз.

PATHOGENICITY FACTORS OF KLEBSIELLA AND THEIR IMPORTANCE IN THE FORMATION OF DYSBIOTIC DISORDERS OF INTESTINAL MICROBIOCENOSIS

Lyudmila A. Levanova, Alina A. Markovskaya

Kemerovo State Medical University, Russian Federation

micro@kemsma.ru

Keywords: *Klebsiella*, factors of pathogenicity, microbiocenosis, dysbiosis.

Введение

Клебсиеллы – условно-патогенные бактерии, которые довольно широко распространены в природе – в почве, пресной и морской воде, растениях и т.п., а также они могут встречаться в составе микробиоценоза кишечника человека и животных. В эпидемиологии *Klebsiellapneumoniae* выделяют два периода. До 1980 г. была эпоха классических клебсиелл, с 1980 г. по настоящее время – эпоха гипервирулентных клебсиелл. Для современной эпидемиологии клебсиелл характерна циркуляция обоих типов. Клебсиеллы значительно увеличили свою значимость и опасность благодаря своей способности аккумулировать детерминанты патогенности, резистентности к антибиотикам, что привело к появлению тяжелых инфекций, трудно поддающихся лечению. Кроме того, ряд факторов вирулентности, которые приобрели клебсиеллы в настоящее время, позволяют возбудителю длительно персистировать в условиях организма-хозяина в результате чего возникают хронические инфекции и бактерионосительство [1, 2].

Материалы и методы

Были определены антилизоцимная активность с помощью метода отсроченного антагонизма в агаре по Р.М. Muriana, Т.Р. Klaehammer (1987 г.) в модификации О.В. Бухарина (1999 г.), чувствительность к антибиотикам диско-диффузионным методом и чувствительность к специфическим бактериофагам качественным методом на агаре. В эксперименте использовали 120 культур клебсиелл, выделенных из кишечника детей в возрасте до 1 года с симптомами дисбиоза.

Статистический анализ проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica (версия 6.1 лицензионное соглашение ВХХР 006ВО92218 FAN 11). Видовой состав клебсиелл, структура микроорганизмов по антилизоцимной активности, антибиотико- и бактериофагорезистентность представлены в виде относительных величин. Для статистической обработки применяли непараметрические критерии оценки статистической значимости. Сравнение изучаемых частот проводили при помощи критериев χ^2 . Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимали равным 0,05.

Результаты

По результатам наших исследований было установлено, что в кишечнике жителей г. Кемерово частота обнаружения бактерий рода *Klebsiella* в зависимости от возраста может достигать 60%. При изучении видового состава выделенных штаммов клебсиелл отмечено, что на долю *Klebsiellaoxytoca* приходится 57%, *Klebsiellapneumoniae* – до 43%.

Все выделенные штаммы клебсиелл обладали антилизоцимной активностью (АЛА) с разным уровнем активности. Наиболее распространенными оказались клебсиеллы со средним уровнем АЛА (5–7 мкг/мл), составившие 61,0% от всех изолированных штаммов. 26,0% клебсиелл имели высокие уровни АЛА (9–10 мкг/мл) и только у 13,0% штаммов обладали низким уровнем АЛА – менее 5 мкг/мл. Распространенность клебсиелл со средним и высоким уровнем АЛА отмечена и у *Klebsiellaoxytoca*, и у *Klebsiellapneumoniae*.

Так среди 57 культур *Klebsiellaoxytoca* средние и высокие значения АЛА имела максимальная доля штаммов (89,5%). Из них 57,9% составляли штаммы со средним уровнем АЛА в диапазоне от 5 до 7 мкг/мл и только 31,6% штаммов имели высокие значения данного признака от 8 до 10 мкг/мл. Из 43 штаммов *Klebsiellapneumoniae* 83,7% имели средние и высокие значения АЛА. Среди данного вида также преобладали клебсиеллы (65,1%) со средними значениями АЛА в пределах 5–7 мкг/мл, на долю клебсиелл с высокими значениями данного признака (8 – 10 мкг/мл) приходилось 18,6% выделенных штаммов.

Клебсиеллы с низкой активностью признака встречались среди *Klebsiellaoxytoca* у 10,5% выделенных штаммов, среди *Klebsiellapneumoniae* – у 16,3% штаммов.

При сопоставлении значений антилизоцимной активности клебсиелл, выделенных из кишечника при разных степенях дисбактериоза, установлено, что при I степени доминируют клебсиеллы с низким уровнем АЛА (69,2%), при II степени основная часть выделенных штаммов (41%) обладала средними значениями АЛА и при III степени дисбактериоза увеличивается число штаммов клебсиелл до 53,8%, имеющие высокие значения данного признака. Различия в структуре факторов персистенции у клебсиелл при различной степени микробиологических нарушений были статистически значимы ($\chi^2=12,8$, $df=6$, $p=0,04$).

Обсуждение

Антилизоцимная активность условно-патогенных бактерий рассматривается как фактор персистенции, обеспечивающий внутриклеточное паразитирование и способствующий более активной колонизации УПМ слизистых оболочек кишечника, что в дальнейшем определяет тяжесть и длительность дисбиотических нарушений [3, 4]. Длительное персистирование клебсиелл с антилизоцимной активностью приводит к снижению количества лизоцима, что способствует накоплению гистамина в органах и тканях, и, как следствие, сенсibilизации организма. Доказательством этих выводов является большая распространенность аллергических заболеваний среди детского населения г. Кемерово, а также длительность дисбиотических нарушений, которые могли сохраняться у отдельных детей до 2–3 лет.

Выводы

Таким образом, степень и длительность дисбиотических нарушений определяется биологическими свойствами (антилизоцимной активностью) условно-патогенных бактерий, в данном случае клебсиелл, выступающих в роли этиологического фактора. Выявление факторов персистенции, таких как антилизоцимная активность у клебсиелл, может являться важным диагностическим признаком, позволяющим использовать более эффективные методы коррекции микробиологических нарушений кишечной нормофлоры.

Литература

1. Микробиоценозы и здоровье человека / Под редакцией В.А. Алёшкина, С.С. Афанасьева, А.В. Караулова. М., Издательство «Династия». 2015, С. 412–415.
2. Алешкин В.А., Алешкин А.В., Афанасьев С.С., Караулов А.В., Воропаева Е.А., Афанасьев М.С. и др. Микробиоценоз кишечника // Вопросы диетологии. 2015, Т.5, № 4, С. 15–52.
3. Гриценко В.А., Иванов Ю.Б. Роль персистентных свойств микроорганизмов в патогенезе эндогенных инфекций // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2009, №4, С. 66–71.
4. Cho I, Blaser M. J. The human microbiome: at the interface of health and disease. Nat. Rev. Genet. 2012, 13 (4): 18933-18938.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИМИКОТИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТАМ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA*, ВЫДЕЛЕННЫМ ИЗ КИШЕЧНОГО МИКРОБИОЦЕНОЗА В МОНОКУЛЬТУРЕ И В АССОЦИАЦИИ С УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫМИ БАКТЕРИЯМИ

Марковская А.А., Захарова Ю.В.

Кемеровский государственный, медицинский университет, г. Кемерово, Россия
micro@kemsma.ru

Ключевые слова: кандиды, антимикотики, микробиоценоз, ассоциации.

ANTIMICOTIC SENSITIVITY OF *CANDIDA* SPECIES ISOLATED FROM INTESTINAL MICROBIOCENOSIS IN MONOCULTURE AND IN ASSOCIATION WITH OPPORTUNISTIC BACTERIA

Alina A. Markovskaya, Yulia V. Zakharova

Kemerovo State Medical University, Russian Federation

micro@kemsma.ru

Keywords: candida, antimicrotics, microbiocenosis, associations

Введение

В настоящее время в связи с широким применением химиотерапевтических препаратов накопилось много данных о выделении грибов рода *Candida*, резистентных к большинству антимикотических средств. На сегодняшний день селекция резистентных штаммов микроорганизмов, связанных с неоправданным лечением, превратилась в панацею, обуславливаемая бактерионосительство и хронизацию воспалительного процесса. Установлено, что антибиотикоустойчивые бактерии способны выделять защитные энзимы или антибиотик-связывающие протеины, которые могут защищать соседние антибиотикочувствительные бактерии. Также они могут передавать другим бактериям гены, отвечающие за антибиотикорезистентность, даже между различными видами бактерий. Именно устойчивость микроорганизмов к антибиотикам рассматривается, как один из факторов биопленкообразования, обеспечивающих не только инициацию инфекционного процесса, но и персистенцию микроорганизмов на слизистых оболочках, определяя резистентность грибов к механизмам антифунгальной защиты макроорганизма-хозяина [1].

Материал и методы

Изучен микробиоценоз кишечника 117 детей в возрасте до 3 лет. Из них 72 ребенка ВИЧ-инфицированных и 45 ВИЧ-негативных. Выделенные культуры условно-патогенных микроорганизмов идентифицировали с использованием общепринятых методик. Чувствительность грибов рода *Candida* к антимикотикам определяли диско-диффузионным методом с использованием среды Мюллер-Хинтон и коммерческих стандартных дисков.

Для статистического анализа использовали пакет прикладных программ Statistica (версия 6.1 лицензионное соглашение ВХХР 006ВО92218 FAN 11). Статистическая обработка информации строилась с учетом характера распределения данных, который определяли с помощью построения гистограмм. В связи с тем, что характер распределения

данных не соответствовал нормальному, для статистической обработки применяли непараметрические критерии оценки статистической значимости. Сравнение контрольных и опытных частот проводили с помощью критерия χ^2 . Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимался равным 0,05.

Результаты

В результате проведенных исследований обнаружено, что частота и уровень колонизация слизистой кишечника грибами рода *Candida* ВИЧ-инфицированных детей выше, чем у детей группы сравнения (97,2% и 26,6%; $4,1 \pm 0,3$ lg и $2,2 \pm 0,3$ lg КОЕ/г соответственно, $\chi^2=10,1$, $df=1$, $p=0,0025$). Подавляющее большинство выделенных из кишечника штаммов дрожжевых грибов, как у ВИЧ-позитивных, так и ВИЧ-негативных, принадлежало к виду *Candida albicans* – 61,1% и 88,9%, на долю *non-albicans*-виды приходилось 38,9% и 11,1% соответственно. Различия в видовой структуре грибов в опытной и контрольной группах были статистически значимы ($\chi^2=6,7$, $df=1$, $p=0,003$).

При изучении ассоциативных микросимбионтов у детей основной группы была установлена высокая распространенность бактериально-грибковых ассоциаций (66,1±9,6 на 100 ВИЧ-инфицированных детей). Среди детей группы сравнения ассоциации грибов и бактерий встречались реже ($28 \pm 11,2$ на 100 относительно здоровых детей). У ВИЧ-инфицированных детей доминировали трехкомпонентные ассоциации микробов, состоящие из *Candida spp.*+*Staphylococcus spp.*+*Enterobacteriaceae*, их доля составила 54,4%. В 17,6% случаев были выделены четырехкомпонентные ассоциации *Candida spp.*+*Staphylococcus spp.*+*Enterococcus spp.*+*Enterobacteriaceae*.

5- и 6-компонентные бактериально-грибковые сожительства (14,7% и 13,3%, соответственно) включали помимо членов четырехкомпонентных ассоциаций представителей рода *Actinomyces spp.* В группе сравнения доминировали двухкомпонентные ассоциативные сожительства бактерий (73,4%), состоящие из представителей семейства *Enterobacteriaceae* и рода *Staphylococcus*. Сожительства бактерий и грибов у здоровых детей встречались в виде трехкомпонентных (*Candida spp.*+*Staphylococcus spp.*+*Enterobacteriaceae*, 22,2%) и четырехкомпонентных (*Candida spp.*+*Staphylococcus spp.*+*Enterococcus spp.*+*Enterobacteriaceae*, 4,4%) ассоциаций.

Определение чувствительности дрожжевых грибов к антимикотикам в наиболее распространенных ассоциациях, показало, что при выделении кишечной палочкой с измененными биологическими свойствами и золотистого стафилококка *C. albicans*, по сравнению с *non-albicans*-видами проявляли более высокую чувствительность к нистатину (100% и 78,5% штаммов соответственно) и амфотерицину В (100% и 83,3% штаммов), чувствительность к клотримазолу была высокой у всех видов микромицетов (90–100%). Чувствительность к флюконазолу была выше в ассоциации *C. albicans* с золотистым стафилококком – 50%, тогда как *non-albicans*-виды в аналогичной ассоциации в 100% случаев проявляли резистентность к данному антимикотику. Низкая чувствительность к флюконазолу зарегистрирована у 25% штаммов *non-albicans*-видов и у 18% штаммов *C. albicans* в ассоциациях *E. coli* Lac-, *Hly*+. В ассоциациях с клебсиеллой чувствительность *C. albicans* к антимикотикам была выше, чем у *non-albicans*-видов: так, к нистатину и клотримазолу она составила 100%, а у *non-albicans*-видов - 100% и 87,5% соответственно, к амфотерицину В – 88,9% (против 50% у *non-albicans*-видов), флюконазолу – 66,7% (у *non-albicans*-видов – 25%).

В целом наибольший процент выделенных штаммов *Candidaalbicans* проявляли устойчивость к 4 антимикотикам. Однако у ВИЧ-инфицированных детей грибы кандиды проявляли максимальную устойчивость к 6 антимикотикам, тогда как у ВИЧ-негативных детей – только к 5 антимикотикам.

Обсуждение

Грибы рода *Candida* являются инициаторами различных болезней в организме человека, когда нарушен биотопный баланс между пробиотическими и относительно патогенными микроорганизмами. В различных экологических нишах данный вид может быть как комменсалом, так и «успешным» оппортунистом. Поэтому важно понимать какие механизмы способствуют переключению *Candidaspp.* от «безобидного» сосуществования до агрессии. Особую значимость приобретает изучение механизмов развития оппортунистических инфекций у ВИЧ-инфицированных детей [2, 3]. Развитие вторичных грибковых осложнений у ослабленных детей нередко является клинической манифестацией ранней ВИЧ-инфекции и, уже на стадии первичных проявлений, они могут приводить к летальному исходу [4]. Сокращение продолжительности жизни ВИЧ-инфицированных детей, инвалидизация, снижение качества жизни, как детей, так и их родителей – все это предопределяет необходимость в разработке новых подходов в предупреждении развития осложнений или поиске возможностей для их отсроченного наступления.

Выводы

Таким образом, для снижения риска развития эндогенных бактериально-грибковых инфекций у ВИЧ-инфицированных детей необходимо изучать микробиоценоз кишечника, проводить видовую идентификацию всех выделенных условно-патогенных микроорганизмов и определять чувствительность к антибиотикам.

Литература

1. Байдусенова А.У., Плискин Н.Н., Бекниязова Г.А. Особенности высеваемости различных видов *Candida* и чувствительности к антимикотическим препаратам у детей г. Астаны // Проблема мед.микологии. 2011, Том 13, №2, С. 64.
2. Марковская А.А. Роль грибов рода *Candida* в развитии оппортунистических инфекций у ВИЧ-инфицированных детей // Медицина в Кузбассе. 2015, Том XIV, №4, С. 23–26.
3. Микробиота кишечника при ВИЧ-инфекции / Ф. И. Керимли, Ю. И. Воробьева, А.Е. Козлов и др. // Бюллетень медицинских Интернет-конференций. 2017, Т. 7, № 6, С. 1013.
4. Jorge O. Alarcon, Laura Freimanis-Hance, et all. Opportunistic and other infections in HIV-infected children in Latin America compared to a similar cohort in the United States. AIDS Research and human retroviruses. Volume 28, Number 3, 2012. Mary Ann Liebert, Inc.

СОВРЕМЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНЫХ АСПЕКТОВ ИММУНОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА

Москалев А.В.

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Российская Федерация
alexnav195223@yandex.ru

Ключевые слова: нейтрофильные гранулоциты, цитокины, апоптоз, воспаление, молекулы «опасности», «нейтрофильные внеклеточные ловушки», хемокины, медиаторы.

CONTEMPORARY CHARACTERIZATION OF KEY ASPECTS OF THE IMMUNO-INFLAMMATORY PROCESS

Moskalev A.V.

The Military Medical Academy by them. S.M. Kirova, St. Petersburg, Russian Federation
alexnav195223@yandex.ru

Key words: neutrophilic granulocytes, cytokines, apoptosis, inflammation, molecules of «danger», «neutrophilic extracellular traps», chemokines, transmitters.

Воспаление является физиологической защитной реакцией организма в ответ на тканевое повреждение. Основу развития любого воспалительного процесса составляет каскад биохимических и иммунологических процессов, направленных на элиминацию повреждающего фактора, заживление пораженных тканей и восстановление нарушенной функции. Воспаление может быть острым или хроническим, однако в процессе развития воспалительной реакции, как правило, наблюдаются признаки воспаления обеих форм. Начальная фаза воспаления чаще всего протекает остро и характеризуется сосудистым ответом, участием нейтрофилов и тучных клеток. Хроническое воспаление обычно ассоциируется с моноклеарными клетками (макрофаги, лимфоциты, плазматические клетки) и фибробластами. Однако при любом развитии воспаления существенная роль в нем принадлежит нейтрофилам. Миграция нейтрофилов является решающей для формирования очага воспаления, очищения от микробов и продуктов их жизнедеятельности. Отсутствие микробов, снижение факторов, индуцирующих апоптоз, активированных нейтрофилов, повышенный уровень провоспалительных цитокинов способствуют увеличению длительности жизни нейтрофилов в несколько раз. Нейтрофилы обладают большим комплексом возможностей и способны выполнять широкий объем специализированных функций. При изучении особенностей фенотипа нейтрофилов и их функциональных свойств, продемонстрировано существование несколько их субпопуляций, обладающих различными возможностями. Нейтрофилы, получающие комплексные цитокиновые влияния во время развития воспалительного ответа проходят различные стадии активации и дифференцировки, экспрессируя при этом антигены II класса главного комплекса гистосовместимости, CD80 (clusterdifferentiation-кластер дифференциации, CD86 (ко-стимулирующие молекулы), ICAM-1 (Intercellular adhesion molecule-1, молекула межклеточной адгезии 1), LFA-1 (Lymphocytefunction-associatedantigen, антиген, ассоциированный с функцией лимфоцитов). Нейтрофилы обладают мощным рецепторным репертуаром, обеспечивающим связь между собой, а также связь с клетками эндотелия, эпителия, клетками иммунной системы и различными тканями: рецепторы адгезии: L-селектин (CD62L), CD11b (CR3), CD18, CR4 (CD11c), VLA-4 (CD49d-Very late antigen-4; интегрин $\alpha 4\beta 1$ -мембранный белок, гетеродимерный интегриновый рецептор подсемейства $\beta 1$ -интегринов), ICAM-3 (CD50), PSGL-1 (CD162); рецепторы к Fc-фрагменту иммуноглобулинов: Fc γ RI (CD64), Fc γ RII (CD32), Fc γ RIII (CD16), Fc α R, Fc ϵ R; маркер миелоидной дифференцировки: CD15; ЛПС-распознающий рецептор: CD14; TOLL-LIKE-рецепторы: TLR1, 2, 4–10; проапоптотический рецептор: CD95 [2]. Хроматин ядер нейтрофилов способен к реструктуризации под влиянием различных индуцирующих стимулов, что сопряжено с экспрессией многочисленных генов, в том числе и генов, про- и противовоспалительных цитокинов. Под влиянием разнообразных индуцирующих стимулов (микробные антигены,

G-CSF(гранулоцитарный колониестимулирующий фактор), GM-CSF (гранулоцитный-моноцитарный колониестимулирующий фактор), IFN α (интерферон), IFN γ , TNF(туморнекротический фактор) нейтрофилы секретирует большой спектр провоспалительных цитокинов (IL-1 α (интерлейкин), IL-1 β , IL-6, IL-7, IL-9, IL-16, IL17A, IL-17F, IL-18, MIF (миграцию ингибирующий фактор), противовоспалительных цитокинов (IL-1R, IL-4, IL-10, TGF β 1(трансформирующий ростовый фактор), TGF β 2), иммунорегуляторных цитокинов (IFN α , IFN γ , IL-12, IL-23), колониестимулирующих факторов (G-CSF, M-CSF, GM-CSF, IL-3, SCF- stem-cell factor-фактор роста стволовых клеток), членов TNF суперсемейства, других цитокинов (amphiregulin, BDNF- нейротрофический фактор головного мозга (brain-derived neurotrophic factor), NGF(фактор роста нервов), NT4 (нейротропин-4), oncostatin M, PBEF (Pre-B cell colony-enhancing factor), факторов роста (EGF-эпидермальный фактор роста, HGF-фактор роста гепатоцитов, FGF2-фактор роста фибробластов, TGF α , VEGF-вакуло-эндотелиальный фактор роста, prokineticin 2), CXС- и СС-хемокинов (семейства хемокинов), различных регуляторных белков [3] и т. д. Мощный гранулярный аппарат нейтрофилов (азурофильные, специфические, третичные гранулы и везикулы) участвует в процессах внутриклеточной интрафагосомальной дегрануляции, осуществляя киллинг и элиминацию фагоцитированных микроорганизмов. В то время как внеклеточная дегрануляция происходит при формировании нейтрофильных экстрацеллюлярных сетей-ловушек (НВЛ), и продукты гранул (миелопероксидаза, протеазы, дефенсины и т. д.), «залипая» в сетях ядерной/или митохондриальной ДНК, осуществляют внеклеточный киллинг микроорганизмов. При этом нейтрофилы погибают через netosis [3]. Первыми в очаг воспаления мигрируют провоспалительные нейтрофилы (N1, CD11b⁺Gr⁺CXCR4^{low}). Это особенно важно, так как недостаток нейтрофилов в очаге воспаления приводит к формированию более тяжелых локальных повреждений и индукции аутоиммунных реакций. NETs в кровеносных сосудах способствуют быстрой локальной реакции свертывания крови, предотвращают гематогенную диссеминацию DAMPs и возможное развитие бактериемии или сепсиса. Кроме того, NETs оказывают цитотоксическое действие на эндотелиальные клетки сосудов. Установлено, что высокие уровни IL-6 коррелируют с температурой (40 °С и выше), тяжестью заболевания и летальностью. Образование NETs происходит: в почках при волчаночном нефрите; в коже при псориазе и системной красной волчанке, в стенке сосудов при ANCA-вакулитам и атеросклерозе [4].

Нейтрофилы при индукции аутоиммунных процессов и образовании NETs характеризуются: повышенным апоптозом и некрозом; снижением микробицидных эффектов макрофагов, апоптотических нейтрофилов; повышенным образованием NETs и снижением деградации апоптотического материала. От концентрации IL-1 β , TNF α , IL-8 зависит положительный и повреждающий эффект. Их высокий уровень рассматривается как «цитокиновый шторм» [4]. Первичной мишенью повреждения при этом является эндотелий кровеносных сосудов различных органов и тканей. Гибель клеток путем некроптоза (индуцированная преимущественно TNF α) снижает уровень продукции цитокинов и неблагоприятные системные эффекты. NETs (внутрисосудистый комплекс гистонов и ДНК) рассматриваются как основные «производители» аутоантигенов при аутоиммунном воспалении. Данный процесс сопровождается образованием широкого спектра аутоантител против нуклеопротеинов, включающих гистоны, двунитчатые ДНК. Иммуные комплексы, образуемые аутоантигенами и аутоантителами, откладываются во многих органах и тканях в

виде инфильтратов и формируют как локальные, так и системные воспалительные процессы [5]. При вовлечении в воспалительный процесс плазматоидных дендритных клеток, распознающих иммунные комплексы, синтезируются в высоких концентрациях $IFN\alpha$, β . Этот процесс является основой для дальнейшей иммунизации и образования высокоаффинных аутоантител. $IFN\alpha$ провоцирует высвобождение сывороточного растворимого Tumornecrosisfactor-relatedapoptosis-inducing ligand (TRAIL) и TRAIL mRNA экспрессию в нейтрофилах, что используется с позитивным эффектом в лечении хронического миелоидного лейкоза [6]. Нейтрофилы, стимулированные $IFN\gamma$, продуцируют TRAIL и это активирует нейтрофилы, повышая их противоопухолевую активность против лейкозных клеток при хроническом миелоидном лейкозе [7].

При возрастании уровней DAMPs (HMGB1, митохондриальной ДНК, внеклеточной АТФ), избыточном благополучный исход воспаления сопровождается замещением нейтрофилов моноцитами в очаге воспаления: N1 нейтрофилы, N2 нейтрофилы, M1 макрофаги, M2 макрофаги. Макрофаги завершают нейтрофильное воспаление, чему способствуют в начале $IL-1\beta$, $TNF\alpha$, $IFN\gamma$, $IL-2$, затем $IL-4$, $IL-6$, $IL-1Ra$, $IL-10$, $TGF\beta$, липоксин A4, малые липидные медиаторы (ресолвины, протектины, маресины) [5, 7]. Дальнейшее развитие воспаления характеризуется присоединением макрофагов, формирования избытка Т-хелперов (Th1, Th2, Th17) в местах поражения и периферической крови, при этом происходит изменения баланса с регуляторными Т-лимфоцитами ($CD4^+CD25^+Foxp3^+$) [7].

Получены убедительные доказательства того, что нейтрофилы повышают функциональную активность моноцитов/макрофагов, их микробицидные эффекты. Блокаторы $TGF\beta$ осуществляют противоопухолевый эффект трансформируя TAN2 в TAN1, обладающие противоопухолевой активностью [7].

Таким образом, в настоящее время происходит изменение понимания функций нейтрофилов в воспалительном процессе и формирование абсолютного нового представления, как о развитии воспаления, так и о нейтрофилах, как клетках с многофункциональными возможностями. Установлено, что нейтрофилы с различной рецепторной оснащённостью, отличаются по своим биологическим свойствам: реструктуризировать хроматин, экспрессировать гены цитокинов и секретировать про- и противовоспалительные цитокины; реализовывать содержимое гранулярного аппарата; продуцировать активные формы кислорода и осуществлять микробицидные эффекты; образовывать нейтрофильные внеклеточные ловушки.

Литература

1. Коваленко, Е.И. Влияние пероксида водорода на способность нейтрофилов генерировать активные формы кислорода и хлора и секретировать миелопероксидазу *in vitro* / Е.И. Коваленко, Г.Н.Семенкова, С. Н. Черенкевич// Цитология. – 2007. – Т. 49, № 10. – С. 839–847.
2. Нестерова, И.В. Нейтрофильные гранулоциты – ключевые клетки иммунной системы / И.В. Нестерова [и др.] // Аллергол. и иммунол. – 2008. – Т. 9, № 4. – С. 432–435.
3. Нестерова, И.В. Профили активности цитотоксических и цитолитических механизмов нейтрофильных гранулоцитов при неопластических заболеваниях пищеварительной системы / И.В. Нестерова [и др.] // Росс.иммунол. журн. – 2010. – Т. 4 (13), № 3. – С. 267–275.

4. Нестерова, И.В. Особенности фенотипа нейтрофильных гранулоцитов при неопластических процессах / И.В. Нестерова [и др.] // Росс.иммунол. журн. – 2010. – Т. 4 (13), № 4. – С. 374–380.
5. Нестерова, И.В. Особенности спонтанной и индуцированной реструктуризации хроматина и функционирования кислородзависимых цитотоксических механизмов нейтрофильных гранулоцитов при колоректальном раке / И.В. Нестерова [и др.] // Росс.иммунол. журн. – 2011. – Т. 5 (14), № 3–4. – С. 254–261.
6. Нестерова, И. В. Двойственная роль нейтрофильных гранулоцитов в реализации противоопухолевой защиты / И.В. Нестерова [и др.] // Иммунология. 2012 – Т. 33, № 5. – С. 281–287.
7. Потапнев М.П. Иммунные механизмы стерильного воспаления / М.П. Потапнев // Иммунология. – 2015. – № 5. – С. 312–318.

ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ НАСЕЛЕНИЯ СИБИРСКОГО И ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ФЕДЕРАЛЬНЫХ ОКРУГОВ

Одинцова И.Н.¹, Жуйкова Л.Д.², Ананина О.А.²

¹ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» МЗ РФ, г. Томск, Россия

²НИИ онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, г. Томск, Россия

OdintsovaIN2017@mail.ru

Ключевые слова: заболеваемость, злокачественные новообразования, Сибирский федеральный округ, Дальневосточный федеральный округ

CANCER INCIDENCE IN POPULATION OF THE SIBERIAN AND FAR EASTERN FEDERAL DISTRICTS

Odintsova I.N., Zhuikova L.D., Ananina O.A.

¹Siberian State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Tomsk, Russia, , Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

²Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

OdintsovaIN2017@mail.ru

Key words: incidence, cancer, Siberian Federal District, Far Eastern Federal District

Введение

Заболеваемость злокачественными новообразованиями (ЗНО) растет во всем мире, что связано с комплексом факторов, в число которых входят увеличение продолжительности жизни населения и длительности воздействия факторов риска, связанных с социально-экономическим развитием. Ожидается, что в XXI веке ЗНО будут основной причиной смерти и единственным наиболее важным препятствием для увеличения продолжительности жизни во многих странах. Проведение профилактических противораковых мероприятий снижает

показатели смертности, но, тем не менее, онкологические службы территорий сталкиваются с общим увеличением абсолютного числа заболевших, что имеет социальные и экономические последствия. Знание статистических и эпидемиологических данных о заболеваемости населения лежит в основе разработки региональных противораковых программ.

Цель исследования – анализ заболеваемости злокачественными новообразованиями населения, проживающего на различных территориях Сибирского Дальневосточного федеральных округов.

Материал и методы

Расчет показателей производился по данным официальной учетно-отчетной медицинской документации территориальных специализированных учреждений за 2005–2018 гг. 20 административных субъектов (без Чукотского АО) и сведений Федеральной службы государственной статистики РФ о численности и половозрастном составе населения территорий. Использованы методы онкологической статистики.

Результаты

За 14-летний период в округах диагностировано 1 336 260 новых случаев злокачественных новообразований, из них 53,1% у женщин и 46,9% – у мужчин. 77,2% больных – жители Сибирского федерального округа (СФО). Из общего числа заболевших в СФО 15,7% были жителями Новосибирской области, 14,9% – Алтайского края, 13,9% – Красноярского края, 13,6% – Иркутской области, 11,1% – Омской области. В Дальневосточном федеральном округе (ДФО) наибольший процент больных проживал в Приморском (32,5%) и Хабаровском (23,8%) краях, Амурской области (13,0%) и Республике Саха (10,1%). За период исследования число заболевших выросло на 38,4%. Наиболее быстрыми темпами увеличивалось число больных в республиках Хакасия (84,8%), Тыва (61,9%), Бурятия (52,8%) и Красноярском крае (82,4%). На Дальнем Востоке высокий показатель прироста наблюдался в Сахалинской области (43,6%) и Камчатском крае (41,8%). Максимальное число заболевших приходится на возрастную группу 60 лет и старше: у мужчин – 64,3%, у женщин – 59,4%. Наибольший удельный вес в структуре онкологической заболеваемости в женской популяции имели опухоли органов репродуктивной системы (38,4%). Каждая четвертая злокачественная опухоль, диагностируемая у мужчин (22,9%), локализовалась в органах дыхания, у женщин удельный вес этих новообразований в 4,5 раза меньше (5,1%). Ниже у женщин и доля новообразований органов желудочно-кишечного тракта (С15–19): 16,1% и 20,2% соответственно. Максимальный показатель заболеваемости в 2018 г. в СФО регистрировался в Иркутской области (стандартизованный показатель, мировой стандарт – 323,5 на 100 тыс. населения), Алтайском (300,7) и Красноярском (297,8) краях, в ДФО – в Сахалинской (321,3) и Магаданской (290,1) областях. С течением времени стандартизованный показатель заболеваемости увеличивался как в округах в целом, так и на отдельных территориях, наибольший темп прироста – в республиках Хакасия (59,6%), Тыва (33,6%), Бурятия (32,4%), Красноярском (53,1%) и Забайкальском краях (33,2%). В целом по округам заболеваемость в мужской популяции на протяжении всего 14-летнего периода выше, чем в женской. В 2005 г. соотношение составило 1,4, в 2018 г. – 1,3, в динамике наблюдалось уменьшение этого показателя, т.е. более быстрыми темпами росла заболеваемость у женщин. В административных образованиях – аналогичная ситуация (исключение республики Алтай и Хакасия). В округах наблюдался рост показателей: у женщин – при раке тела матки (температура

прироста 41,3%), молочной железы (темп прироста 34,2%) и легкого (темп прироста 33,3%); у мужчин – при новообразованиях предстательной железы (темп прироста 147,2%); у лиц обоего пола – при меланоме кожи (темп прироста 35,7%), раке головного мозга (темп прироста 49,2%), щитовидной железы (темп прироста 49,0%), почки (42,1%), кожи (33,0%), поджелудочной железы (29,1%), ободочной кишки (23,6%) и прямой кишки (20,3%). При этом, в популяциях, проживающих на различных территориях, отмечалась и разница в частоте встречаемости ЗНО определенных локализаций, таких как, например, рак пищевода, желудка, молочной железы, печени, шейки и тела матки.

Выводы

В динамике увеличивались как абсолютное число заболевших ЗНО, так и стандартизованный показатель заболеваемости, как в целом по округам, так и, практически, на всех территориях, входящих в их состав. Темп прироста показателей заболеваемости выше в женской популяции. Среди населения наблюдался рост заболеваемости видами рака, одним из факторов риска которых является «западный» образ жизни. Различия в частоте встречаемости ЗНО определенных локализаций (рак пищевода, желудка, молочной железы, печени, шейки и тела матки) говорят и о значении территориальных факторов риска в развитии опухоли.

ЦИТОКИНЫ ПРИ ОСТРЫХ И ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Оспельникова Т.П.^{1,2}, Морозова О.В.²

¹ФГБНУ НИИВС им.И.И.Мечникова, г. Москва, Россия;

²ФГБУ «НИЦЭМ им.Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России, г. Москва, Россия

ospelnikovat@mail.ru

Ключевые слова: респираторные вирусы, бронхиальная астма, цитокины

CYTOKINES IN ACUTE AND CHRONIC DISEASES

Ospelnikova T.P.^{1,2}, Morozova O.V.²

¹I.I.Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia;

²N.F. Gamaleya NRCEM MoH, Moscow, Russia

ospelnikovat@mail.ru

Keywords: respiratory viruses, bronchial asthma, cytokines

Введение

Респираторные инфекции составляют 90% всех регистрируемых инфекций с одинаковыми уровнями заболеваемости в развитых и развивающихся странах. Несмотря на повсеместную циркуляцию респираторных вирусов среди резервуарных хозяев и в популяциях людей в течение всех сезонов года заболеваемость определяется врожденной резистентностью и специфическим иммунитетом. В результате острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) помимо лихорадочных форм описаны осложнения в форме менингитов, энцефалитов, параличей, пневмонии, бронхиальной астмы (БА), возможны летальные исходы. Повышенные частоты инфекционных заболеваний могут быть следствием первичных (наследственных) и вторичных (приобретенных) иммунодефицитов [1, 2, 3]. С 2014 г. отмечен рост заболеваемости ОРВИ, что может быть обусловлено как

усовершенствованием диагностики, так и увеличением относительной доли населения с иммунодефицитами. **Цель:** сравнительный анализ экспрессии генов ЦК в крови, смывах и мокроте у взрослых с ОРВИ и БА.

Материал и методы

Клинические образцы (кровь, носоглоточные смывы, мокрота) взрослых пациентов (n=64; Городская Клиническая Больница №1 и №57, г. Москва) с диагнозом: 1) ОРВИ (n=17); 2) БА в обострении (n=19); 3) БА, ассоциированная с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ), в ремиссии (n=28). Пациентов с ОРВИ и БА в обострении обследовали на 1–2 сутки заболевания с получением информированного согласия. Группу сравнения составили 30 здоровых волонтеров 25–55 лет без признаков респираторных заболеваний.

Диагностику с идентификацией возбудителя ОРВИ (вирусов гриппа А и В) проводили посредством обратной транскрипции с последующей полимеразной цепной реакцией с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ) с использованием коммерческих наборов «Амплисенс® Influenza virus A/B-FL», «Амплисенс® Influenza virus A/H1-swine-FL» и «Амплисенс® Influenza virus А-тип-FL». Другие респираторные вирусы (РНК риновирусов, респираторно-синцитиального вируса, метапневмовируса, вирусов парагриппа 1, 2, 3 и 4 типов, коронавирусов видов OC43, E229, NL63, HKUI, ДНК аденовирусов групп В, С и Е и бокавируса) определяли с использованием набора «ОРВИ-Амплисенс» («Амплисенс», Москва).

Количественное определение РНК интерферонов (IFN) α , β , γ , λ , интерлейкина (IL)23 и противовирусного белка МхА в мононуклеарных клетках крови, сыворотках, носоглоточных смывах и образцах мокроты проводили посредством ОТ-ПЦР-РВ в соответствии с [4].

Иммуноферментный анализ (ИФА) по определению цитокинов проводили с использованием наборов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия): IL1 β , IL6, IL8, IFN α , IFN γ , TNF α , IL4, IL10, IL17 и трансформирующий ростовой фактор (TGF) β 1 (BenderMedSystems). Концентрации 37 биомаркеров воспаления определяли в сыворотке крови с использованием набора «Bio-PlexPro™ HumanInflammationPanel 1 37-plex» на анализаторе «MAGPIX» («BioRad», США).

Коэффициенты поляризации иммунитета (КП) определяли по соотношениям частот детекции РНК или геном-эквивалентов генов цитокинов Т-хэлперного пути 2 типа (Th2) и 1 типа (Th2:Th1), а также Th17:Th1 по результатам ОТ-ПЦР-РВ или ИФА.

Показатели функциональной неспецифической резистентности лейкоцитов больных и здоровых доноров охарактеризованы методом количественного определения биологической активности IFN α и II типов, используя цельную гепаринизированную кровь [5].

Статистическое сравнение выборочных долей и количеств цитокинов проводили с использованием критерия Стьюдента и ПО «Biostat». Принят уровень значимости различий $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В контрольных носоглоточных смывах у здоровых взрослых людей КП=Th2:Th1=0. В смывах пациентов с ОРВИ методом ОТ-ПЦР-РВ выявлены аденовирус, вирусы гриппа А и В. В течение первых дней заболевания КП<1 для цитокинов Th2:Th1 или Th17:Th1 свидетельствовал о Th1-поляризации врожденной резистентности с последующей элиминацией вирусов без осложнений. У больных БА с обострением в 36,2 \pm 7,1% образцов мокроты детектировали преимущественно риновирус (коэффициент корреляции $r=0.6$), респираторно-синцитиальный вирус, аденовирус, вирусы гриппа и парагриппа. Высокие

частоты смешанных ОРВИ ($35,7 \pm 13,3\%$ у пациентов с БА свидетельствовали об иммунодефицитах. Несмотря на $KП=(0,1 \div 0,7) < 1$ у больных БА, незначительно превышающие таковые при ОРВИ, выявлено отсутствие РНК $IFN\beta$ в образцах индуцированной мокроты пациентов с БА+ХОБЛ, при её наличии во всех смывах респираторного тракта больных ОРВИ. Напротив, РНК $IFN\alpha$ отсутствовала в смывах больных ОРВИ и выявлена в 58,3% образцов больных БА+ХОБЛ. Выявлены уменьшение концентраций регуляторного $TGF\beta$ и рост концентраций $IL4$, активирующие образование антител. Респираторные вирусные инфекции могут обострять астму через воспаление дыхательных путей, повышенную секрецию слизи и гиперчувствительность бронхов.

Концентрации провоспалительных цитокинов и особенно $IFN\gamma$ ($P < 0,001$) значительно превышали контрольные значения у здоровых доноров. Увеличение продукции фактора некроза опухоли (TNF) α и $IL6$ выявлено у пациентов с обострением БА [6]. Повышенные уровни провоспалительных цитокинов сопровождалась нормальными концентрациями регуляторного $IL10$. Кроме того, количество $TGF\beta$, ответственного за индукцию клеток $Th17$ для удаления внеклеточных патогенов и воспаления тканей, снижалось. Индукция провоспалительных цитокинов, вызванных респираторными вирусами, может вызывать аллергическое воспаление.

У больных БА провоспалительные цитокины $IFN\gamma$, $IL1\beta$ и $IL8$ выявлены во всех исследованных образцах мокроты; $IFN\alpha$, $TNF\alpha$, $IL4$, $IL6$, и $TGF\beta$ обнаружены только в 11–44% образцов. Соотношение средних концентраций $IFN\gamma$ и $IL4$ (1,9) у больных БА также свидетельствовало о сдвиге баланса в сторону провоспалительных цитокинов. Нарушение баланса в системе цитокинов со сдвигом в сторону повышения уровня провоспалительных цитокинов, дефицит противовоспалительных цитокинов и дисбаланс интерферонов, сниженная биологическая активность интерферонов, могут вызывать длительное аллергическое воспаление.

Выводы

Таким образом, ОРВИ индуцируют $Th1$ иммунный ответ с $KП < 1$, в том числе и у больных БА. Экспрессия генов $IFN I$ типа в клетках респираторного тракта при ОРВИ без последующих осложнений и БА существенно отличается:

1. **IFN α** , отсутствующий в смывах здоровых людей и больных ОРВИ и детектируемый в мокроте у больных БА;
2. **IFN λ** с высокими частотами и уровнями экспрессии гена у здоровых и больных ОРВИ и значительным ингибированием с детекцией только в 42,9% образцов от больных БА;
3. низкие уровни экспрессии гена **MX1**, индуцируемого $IFN I$ типа и кодирующего противовирусный белок **MxA**, у больных БА по сравнению со здоровыми людьми и пациентами с ОРВИ могут свидетельствовать об интерфероновой недостаточности.

Литература

- 1) Moser S., Peroni D.G., Comberiat P., Piacentini G.L. Asthma and viruses: is there a relationship? Front Biosci (Elite Ed). 2014; 6: 46-54.
- 2) Busse W.W., Lemanske R.F., Gern J.E. The Role of Viral Respiratory Infections in Asthma and Asthma Exacerbations. Lancet. 2010; 376(9743): 826–834.
- 3) Seth R.B., Sun L., Chen Z.J. Antiviral innate immunity pathways. Cell. Research. 2006; 16: 141-147

- 4) Морозова О.В., Оспельникова Т.П. Тест-система для определения РНК интерферона λ , интерлейкина IL23 и противовирусного белка МхА. Патент на изобретение РФ №2627179 от 28.07.2016, опубликован: 03.08.2017.
- 5) Оспельникова Т.П., Колодяжная Л.В., Табаков В.Ю., Ершов Ф.И. Способ определения продукции интерферонов как параметров врожденного иммунитета. Патент на изобретение РФ №2657808 от 10.07.2017, опубликован: 15.06.2018.
- 6) Rajput C, Walsh MP, Eder BN, Metitiri EE, Popova AP, Hershenson MB. Rhinovirus infection induces distinct transcriptome profiles in polarized human macrophages. *Physiol Genomics*. 2018;50(5):299-312. doi: 10.1152/physiolgenomics.00122.2017.

ПРИМЕНЕНИЕ АКТИВНЫХ МЕТОДОВ ОБУЧЕНИЯ ДЛЯ ПРЕПОДАВАНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ «ИММУНОЛОГИЯ» У СТУДЕНТОВ 3 КУРСА СПЕЦИАЛЬНОСТИ «ЛЕЧЕБНОЕ ДЕЛО»

Саранчина Ю.В.

ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», г. Абакан, Россия

july.saran4ina2010@yandex.ru

Ключевые слова: иммунология, активные методы обучения.

THE USE OF ACTIVE TEACHING METHODS FOR TEACHING THE DISCIPLINE «IMMUNOLOGY» IN THE 3RD YEAR STUDENTS OF THE SPECIALTY «MEDICINE»

Saranchina Yu.V.

Khakass state University named after N.F. Katanov, Abakan, Russia

july.saran4ina2010@yandex.ru

Keywords: immunology, active teaching methods.

Введение

Иммунология – это наука, изучающая механизмы и способы защиты организма от генетически чужеродных веществ (антигенов) с целью сохранения и поддержания гомеостаза, структурной и функциональной целостности организма, а также биологической (антигенной) индивидуальности и видовых различий [1]. В течение своего развития иммунология прошла несколько форм преобразований, зародившись в области медицинской бактериологии, к настоящему времени, превратившись в самостоятельную дисциплину, проникнув во все медицинские специальности [2, 3, 4]. На сегодняшний день сложно представить себе описание механизмов развития какого-либо заболевания без участия иммунных реакций.

Современные молекулярно-биологические методы исследований стали неотъемлемой частью иммунологии и позволили ей выйти на новый уровень изучения иммунологических реакций и процессов. С использованием данных методов были получены вакцины нового типа, а также получила свое развитие иммуноонкология, в рамках которой стали разрабатывать препараты для лечения онкологических, аллергических и аутоиммунных

заболеваний [5]. Исследования в данном направлении являются актуальными в связи с высокой распространённостью аллергии и повышением смертности населения от онкологических заболеваний.

Подготовка студентов медицинских специальностей включает в образовательную программу изучение иммунологии, в рамках которой студентам даются базовые знания о функционировании иммунокомпетентных клеток, механизмах развития основных форм иммунного реагирования и патологических иммунных реакциях. Курс «Иммунология» относится к циклу математических и естественнонаучных дисциплин. Изучение дисциплины «Иммунология» базируется на данных, полученных из дисциплин, которые были освоены студентами на прошедших курсах, а именно анатомии, гистологии, нормальной физиологии и биохимии. Для освоения дисциплины «Иммунология» студенты уже должны быть знакомы с особенностями строения и функционирования органов иммунной системы, знать морфологические отличия иммунокомпетентных клеток, уметь пользоваться микроскопами.

Основной целью учебной дисциплины является освоение студентами теоретических основ и практических навыков по строению иммунной системы организма человека и механизмах реализации иммунного ответа. В связи с этим перед преподавателем встает непростая задача, в условиях многообразия информации и доступности средств обучения развить у обучающихся все необходимые компетенции. Целью данного исследования является оценка эффективности применения активных методов обучения для преподавания дисциплины «Иммунология» у студентов 3 курса специальности «Лечебное дело».

Материал и методы

В исследовании принимали участие 2 группы студентов специальности «Лечебное дело» 3 курса. Группы были сопоставимы по исходному уровню знаний. В первой группе занятия проводились по плану: преподаватель проводил опрос, при этом ведущая роль принадлежала преподавателю (он объяснял материал), затем выполнялась письменная контрольная работа в виде теста с одним правильным ответом. При проведении опроса использовался презентация с иллюстрациями схем иммунного ответа при различных состояниях. Далее студенты самостоятельно решали ситуационные задачи, которые затем обсуждались с преподавателем. В конце занятия был проведен итоговый контроль в виде письменной работы, в которую входили вопросы с открытыми ответами и рисунками.

Во второй группе: вводный контроль в виде теста с одним правильным ответом, затем обучающиеся были разделены на группы по 2–3 человека. Каждой группе было дано задание, используя различные источники информации, подготовить письменно ответы на вопросы в виде схемы иммунного ответа. Затем каждая группа у доски по очереди рисовала свою схему и объясняла присутствующим. Все остальные записывали схему в тетрадь, задавали вопросы и корректировали ошибки. После каждого ответа обязательно студенты формулировали вывод о типе иммунного ответа при различных состояниях. Затем студентам были показаны короткие видеоролики, в которых были представлены механизмы развития различных типов иммунного ответа. Задание: определить вид иммунного ответа, указать основные участники иммунного ответа. Роль преподавателя заключалась в консультации и корректировке ответов студентов. В конце занятия проводился итоговый контроль в виде письменной контрольной работы, в которую входили вопросы с открытыми ответами и рисунками. Результаты исследований представлены в виде относительных частот (%). Для сравнения групп использовали непараметрический критерий χ^2 -Пирсона. Статистически

значимыми считали различия при $p \leq 0,05$. Расчеты были произведены с помощью пакета программ Statistica.

Результаты и их обсуждение

По результатам проведенного исследования было обнаружено, что результаты входного контроля в обеих обследуемых группах не имели статистически значимых различий. Уровень подготовки к занятию был примерно одинаковый (табл. 1).

Таблица 1

Результаты контроля знаний учащихся, полученных при применении активных методов обучения

Исследуемые группы	Отметка	Доля студентов, %/абс.ед.	
		Входной контроль	Итоговый контроль
Основная (n=25)	5	36/9	60/15
	4	28/7	28/7
	3	28/7	12/3
	2	8/2	0/0
Контрольная (n=27)	5	14,8/4	37/10
	4	59,3/16	44,4/12
	3	18,5/3	18,5/5
	2	7,4/2	7,4/2
Уровень статистической значимости, p		1,0	0,003

Так, в контрольной группе доля студентов, получивших отметку «отлично» составила 14,8%, в основной группе – 36%. В основной группе количество обучаемых с отметкой «хорошо» встречалось реже, чем в контрольной группе и составило 28% и 59,3% соответственно (табл. 1). Отметка «удовлетворительно» в основной группе встречалась чаще, чем в группе сравнения (28% и 18,5% соответственно). Количество студентов, имеющих неудовлетворительную оценку, в обеих группах было одинаковым (по 2 человека).

После проведения занятия с использованием активных методов обучения качество и успеваемость улучшились по сравнению с контрольной группой (табл. 1). Выявленные различия были статистически значимыми ($p=0,003$). По результатам итогового контроля в основной группе доля студентов с отметкой «отлично» увеличилась на 24%, с отметкой «хорошо» – показатели не изменились по сравнению с входным контролем, с отметкой «удовлетворительно» – количество студентов уменьшилось на 16%, а студентов с неудовлетворительной отметкой установлено не было. В контрольной группе также наблюдалось увеличение доли студентов, имеющих отличную оценку (на 22,2%) на фоне снижения обучаемых с отметкой «хорошо» (на 14,9%). Число студентов с удовлетворительными и неудовлетворительными оценками не изменилось.

Обсуждение и выводы

Активное обучение представляет собой такую организацию и ведение учебного процесса, которая направлена на всемерную активизацию учебно-познавательной деятельности обучающихся посредством широкого, комплексного, использования как педагогических (дидактических), так и организационно-управленческих средств. Активное обучение отличается от обычного обучения рядом особенностей, к которым, прежде всего, относится активизация мыследеятельности студентов путем формирования специальных условий, которые способствуют этой активизации независимо от их желания [6].

Использованная в процессе преподавания дисциплины «Иммунология» организация учебных занятий с применением активных методов обучения является эффективной так, как уровень обучения у студентов повысился. Необходимо внедрять в учебный процесс больше различных форм и приемов обучения для повышения мотивации обучающихся и качества их обучения.

Литература

1. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: том 1 : учебник / Под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко, 2010.
 2. Корнева Е.А. Основные этапы и тенденции развития иммунофизиологии (к 20-летию основания Международного научного общества по нейроиммуномодуляции) // Медицина. XXI век, 2007. № 6. С. 16-23.
 3. Поземковска М., Чурилов Л.П. Илья Ильич Мечников и всемирное значение его наследия // Клиническая патофизиология, 2016. Т. 22, № 3. С. 3-28.
 4. Корнева Е.А., Петяева А.В., Федоткина Т.В., Чурилов Л.П., Шенфельд И. Втоги и перспективы развития аутоиммунологии в мире (по материалам 11-го Международного Конгресса в Лиссабоне 16-20 мая 2018 года).сообщение I: Первая Академия Аутоиммунитета. Медицинская иммунология. 2019;21(1):171-188.
 5. Лебедева Е.С., Атауллаханов Р.И., Хаитов Р.М. Вакцины для лечения злокачественных новообразований. Иммунология. 2019. Т. 40. № 4. С.64-76.
- Кругликов В. Н. Активное обучение в техническом вузе: теория, технология, практика. – СПб.: ВИТУ, 1998. – 308 с.

ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОЙ ПРОДУКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С МУЛЬТИФОКАЛЬНЫМ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ

Саранчина Ю.В., Дутова С.В., Килина О.Ю., Кулакова Т.С., Ханарин Н.В.

ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», г. Абакан, Россия

july.saran4ina2010@yandex.ru

Ключевые слова: сердечно-сосудистые заболевания, мультифокальный теросклероз.

THE FEATURES OF CYTOKINE PRODUCTION IN PATIENTS WITH MULTIFOCAL ATHEROSCLEROSIS

Saranchina Yu.V., Dutova S.V., Kilina O.Yu., Kulakova T.S., Hanarin N.V.

«Khakass state University named after N.F. Katanov», Abakan, Russia

july.saran4ina2010@yandex.ru

Keywords: multifocal atherosclerosis.

Введение

Несмотря на достигнутые успехи в области изучения этиологии, патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний, а также методов их диагностики и лечения, смертность от болезней системы кровообращения стоит на первом месте во всем мире. При этом лидирующие позиции среди болезней кровообращения занимают смертность от ишемической болезни сердца и цереброваскулярных нарушений. При этом смертность от болезней системы кровообращения в РФ выше, чем в развитых странах (по данным Росстата, 2018).

Основной причиной развития ишемической болезни сердца является атеросклеротическое поражение стенок сосудов. С каждым годом накапливается все больше сведений в пользу воспалительной теории развития атеросклероза (АС). Согласно воспалительной теории АС, ключевыми клетками, запускающими формирование бляшки, являются макрофаги. Однако, на сегодняшний день, проведены многочисленные исследования, показавшие, что в составе бляшки встречаются и другие клетки, а их роль в атерогенезе продолжает изучаться до сих пор [1, 2, 6, 7, 9]. При этом, клеточный состав бляшек влияет на их стабильность [7, 9].

Кроме клеточного компонента, в процессе развития атеросклероза активно изучаются молекулы межклеточного взаимодействия – цитокины. К настоящему моменту уже хорошо изучены цитокины разных классов, особенно провоспалительные цитокины [3, 5, 10, 11, 12]. При этом о роли противовоспалительных цитокинов в процессе атерогенеза встречаются противоречивые данные, которые требуют проведения дальнейших исследований. Одним из ключевых вопросов, которые стоят перед исследователями на современном этапе изучения АС является вопрос о том, какова роль цитокиновой регуляции в атерогенезе? Какой путь ведущий Th₁ или Th₂? В связи с этим, целью данного исследования было оценить цитокин-продуцирующую способность лейкоцитов у пациентов с АС.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 46 пациентов, проходившие лечение по поводу артериальной гипертензии в терапевтическом отделении ГБУЗ РХ «Республиканская клиническая больница им. Г.Я. Ремишевской», из них 26 женщин и 20 мужчин. Верификация атеросклеротического поражения сосудов проводилась с помощью ультразвукового исследования. Ультразвуковое исследование брахиоцефальных артерий выполняли на ультразвуковом сканере Philips En Visor (Philips, Нидерланды) с многочастотным датчиком с рабочей частотой 5–10 МГц. АС определялись как локальное утолщение стенки сосуда на 50% или больше по сравнению с окружающими участками стенки или как очаговое утолщение комплекса интима-медиа более 1,5 мм выступающего в просвет сосуда. Оценивали наличие атеросклеротических бляшек (АБ) и стенозов в 6 областях брахиоцефального бассейна: обе общие сонные артерии, обе бифуркации и обе внутренние сонные артерии. Процент стеноза был рассчитан локально в поперечном сечении в области максимального сужения просвета сосуда (Рекомендации Европейского общества сосудистых хирургов, 2017).

Средний возраст обследуемых составил 63,4±3,2 года. В контрольную группу вошли 40 обследуемых (23 жен и 17 муж., средний возраст 44,7±5,5 лет), не имеющих атеросклеротического поражения стенок сосудов, острых и хронических заболеваний в фазе обострения, не принимающих противовоспалительные и антимикробные препараты. В качестве материала для исследования в группе пациентов с АС (основная группа) выступали образцы АБ и венозная кровь (в контрольной группе – только венозная кровь). АБ были получены путем эндартерэктомии, затем подвергались гомогенизации с последующим ферментативным гидролизом в течение 1 часа при температуре 37°C коллагеназой IV Gibco (Thermo Scientific) в присутствии ингибиторов протеиназ III Gibco (Thermo Scientific). Содержание цитокинов определяли в сыворотке крови и гомогенате АБ у пациентов с АС. Для оценки цитокин-продуцирующей способности лейкоцитов крови и лейкоцитов, выделенных из АБ, определяли спонтанную и фитогемагглютинин (ФГА)-индуцированную продукцию цитокинов при их культивировании в среде RPMI-1640. Концентрацию

цитокинов во всех биологических материалах определяли методом иммуноферментного анализа с помощью наборов фирмы eBioscience (Австрия). Результаты статистически обработаны и представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Ме (Q1-Q2)). Для сравнения групп использовали непарметрические критерии Манна-Уитни и Вилкоксона. Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты

Были определены концентрации цитокинов Th1-типа (фактора некроза опухоли-альфа (ФНО-альфа), интерферона-гамма (ИФН-гамма)) и Th2-типа (интерлейкина-5 (ИЛ), ИЛ-9, ИЛ-13, ИЛ-19 и ИЛ-33). Установлено, что содержание цитокинов в сыворотке крови у пациентов с АС не отличалось от контрольной группы, кроме количества ФНО-альфа, уровень которого был статистически значимо выше, чем в группе контроля и составил 2,16 (0,42–6,09) пг/мл и 0,00 (0,00–0,00) пг/мл соответственно (табл. 1).

Таблица 1

Сывороточный уровень цитокинов у пациентов с АС

Цитокины, пг/мл	Контрольная группа			Больные с АС			Уровень статистической значимости, р
	Q1	Ме	Q3	Q1	Ме	Q3	
ФНО-альфа	0,00	0,00	0,00	0,42	2,16	6,09	0,03
ИФН-гамма	1,99	2,19	2,28	1,42	2,95	5,27	0,42
ИЛ- 5	8,55	9,74	10,33	4,67	7,35	8,84	0,28
ИЛ-9	6,89	6,91	7,06	6,96	7,11	7,17	0,12
ИЛ-13	0,69	1,94	2,15	2,03	2,37	4,15	0,23
ИЛ-19	108,22	116,67	142,02	88,91	113,05	120,29	0,46
ИЛ-33	8,83	8,97	9,07	8,90	9,17	9,36	0,29

При сравнении уровня продукции цитокинов в сыворотке и гомогенате АБ, у пациентов с АС установлено статистически значимое повышение уровня ИЛ-33 в гомогенате бляшки (табл. 2).

Таблица 2

Сравнение уровня продукции цитокинов в сыворотке и гомогенате АБ

Цитокины, пг/мл	Сыворотка			Гомогенат АСБ			Уровень статистической значимости, р
	Q1	Ме	Q3	Q1	Ме	Q3	
ФНО-альфа	0,42	2,16	6,09	0,00	2,45	12,08	0,753
ИФН-гамма	1,41	2,95	5,27	1,32	2,13	3,06	0,656
ИЛ-5	4,67	7,35	8,84	0,54	7,50	11,23	0,779
ИЛ-9	6,96	7,11	7,17	6,93	7,02	7,05	0,500
ИЛ-13	2,03	2,37	4,15	0,90	2,24	2,55	0,100
ИЛ-19	88,91	113,05	120,29	88,91	96,15	108,22	0,182
ИЛ-33	8,90	9,17	9,37	50,87	167,26	258,35	0,003

При этом также наблюдалась тенденция к увеличению уровня ИЛ-19 в сыворотке крови у пациентов с АС по сравнению с концентрацией других цитокинов.

Обсуждение и выводы

Повышение ФНО-альфа обусловлено ключевой атерогенной ролью в развитии АС как регулятора провоспалительного ответа. Прогрессия АС всегда положительно коррелирует с повышением уровня продукции ФНО-альфа [4,8]. Повышение уровня ФНО-альфа позволяет дифференцировать больных АС от контрольной группы. Повышение продукции ИЛ-33 в

гомогенате бляшки можно расценивать как показатель ее стабильности, так как он обладает противоатерогенной ролью: индуцирует выработку Th2-цитокинов (ИЛ-5, ИЛ-13 и др.), уменьшает продукцию ИФН-гамма и увеличивает продукцию антител [4]. Таким образом, в бляшке происходит переключение на Th2-тип регуляции, который способствует ее стабилизации и снижению риска осложнений АС. В то время как на системном уровне наблюдается преобладание Th1- типа регуляторных процессов.

Результаты получены в рамках выполнения гос. задания Минобрнауки России (задание № 17.9545.2017/БЧ).

Литература

1. Аймагамбетова А. О. Атерогенез и воспаление. Наука и здравоохранение. 2016; 1: 24-39.
2. Аронов Д. М., Лупанов В. П. Некоторые аспекты патогенеза атеросклероза. Атеросклероз и дислипидемии. 2011; 1: 48-56.
3. Турмова Е. П., Маркелова Е. В., Силаев А. А. и др. Особенности цитокинового статуса у больных с атеросклерозом. Медицинская иммунология. 2014; 16 (4): 323-32).
4. Фатхуллина А.Р., Пешкова Ю.О., Кольцова Е.К. Роль цитокинов в развитии атеросклероза (обзор). Биохимия. 2016; 81 (11): 1614-1627.
5. Шишкина В. С., Челомбитько М. А., Ефремова Ю. Е. и др. Цитокины про- и противовоспалительной субпопуляций макрофагов и их значение в формировании и стабилизации атеросклеротических бляшек в сонных артериях человека. Кардиологический вестник. 2014; 4: 62-70.
6. Hansson G.K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. N Engl J Med. 2005; 352: 1685-95.
7. Bui Q.T, Premph M, Wilensky R.L. Atherosclerotic plaque development. Int J Biochem Cell Bio. 2009; 41 (11): 2109-13.
8. Canault M., Peiretti F., Poggi M., Mueller C., Kopp F., Bonardo B. et al. Progression of atherosclerosis in ApoE-deficient mice that express distinct molecular forms of TNF-alpha, J. Pathol. 2008; 214: 574-583.
9. Libby P, Ridker P.M., Hansson G.K. Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice. JACC. 2009; 54 (23): 2129-38.
10. Mc Cullough P.A, Peacock F.W, O'Neil B. et al. Capturing the pathophysiology of acute coronary syndromes with circulating biomarkers. Rev Cardiovasc Med. 2010; 11 (2): 3-12.
11. Shalhoub J, Viiri L.E, Cross A.J, et al. Multi-analyte profiling in human carotid atherosclerosis uncovers pro-inflammatory macrophage programming in plaques. Thrombosis and Haemostasis. 2016; 115(5): 1-9.
12. Tedgui A., Mallat Z. Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways. Physiol Rev. 2006; 86 (2): 515-81.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ В, С, D, G, E

¹Семенов С.И., ²Степанов К.М., ³Писарева М.М.

¹ФГАОУ СВФУ им.М.К. Аммосова, Медицинский институт, Якутск, Россия, insemenov@yandex.ru

²ФГБНУ ЯНЦ КМП, Якутск, Россия, stenko07@mail.ru

³ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России, Санкт-Петербург
maria.pisareva@influenza.spb.ru

Ключевые слова: вирусный гепатит В, D, хронический гепатит С, антитела, РНК HCVHDV, ДНК HBV, РНК HGV вирусный гепатит Е.

MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF VIRAL HEPATITIS B, C, D, G, E

¹Semenov S.I., ²Stepanov K.M., ³Pisareva M.M.

¹ *Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «M. K. Ammosov North-Eastern Federal University», Medical Institute, Yakutsk, Russia, insemenov@yandex.ru*

² *Federal State Budget Scientific Institution, Yakutsk Scientific Center for Complex Medical Problems, Yakutsk, Russia, stenko07@mail.ru*

³ *Ministry of Health of Russian Federation, Smorodintsev Research Institute of Influenza, WHO National Influenza Center of Russia, St. Petersburg*
maria.pisareva@influenza.spb.ru

Keywords: viral hepatitis B, D, chronic hepatitis C, antibodies HCV, HDV RNA, HBV DNA, HGV RNA, viral hepatitis E.

Введение

В последние годы эпидемический процесс парентеральных вирусных гепатитов В, С и D в мире и в России меняется. Происходит резкое снижение острых форм вирусных гепатитов В и D, что связано с широким массовым проведением вакцинопрофилактики вирусного гепатита В [1]. Тем не менее доля хронических гепатитов В в общей структуре хронических вирусных гепатитов в России, в частности, в Республике Саха (Якутия) сохраняется [2]. На фоне снижения заболеваемости вирусным гепатитом В повсеместно наблюдается преобладание заболеваемости хроническим вирусным гепатитом С [4]. Особенно актуально для Якутии изучение закономерностей распространения инфекции, вызываемой вирусным гепатитом D. Проведенные ранее исследования показали исключительно высокую частоту обнаружения антител к вирусу гепатита D в разных районах республики [2]. Гепатит Е представляет важную проблему здравоохранения стран всего мира и по некоторым оценкам одна треть населения мира инфицирована HEV-инфекцией. Исследования показывают повсеместное распространение вирусного гепатита Е. Во многих странах Европы выявляемость серологических маркеров у доноров колеблется от 1,3% в Италии до 52% во Франции, а в группах риска – у фермеров, охотников этот диапазон варьирует от 1,3% до 52% [5].

Целью исследования был серологический и молекулярно-биологический мониторинг широты распространения вирусных гепатитов В, С, D, G и Е в Республике Саха (Якутия).

Материал и методы

С целью определения широту распространения маркеров вирусных гепатитов В, С, D, Е серологические (ИФА) и молекулярно-биологические (ПЦР) исследования проведены у 182 человек из разных районов и групп населения республики. Из них 99 человек составили группу условно-здоровых лиц (сотрудники дома инвалидов 60 человек и 36 человек из Усть-Алданского района), во вторую группу вошли больные хроническими формами вирусных гепатитов различной этиологии (n=83). Впервые в Якутии проведено тестирование РНК HGV среди населения республики. Всего обследовано 340 человек из различных районов. Первую группу исследованных составили условно-здоровые люди, которые впервые обследуются на наличие вирусного гепатита В, С, D и G в количестве 198. Вторую группу исследованных

составили 142 человека с различными этиологическими формами вирусного гепатита В, С и D. Методом ИФА исследования проводили на наличие HBsAg, a-HBsAg (мЕд/мл), a-HBc-суммарные, a-HBc IgM, a-HBeAg, a-HBe IgG, a-HDV, a-HDV-IgM, a-HCV, спектр CORE, NS3, NS4, NS5, a-HEV-IgG. Использовали тест-системы «Гепаскан HBsAg» и «Гепаскрин» производства ЗАО «Биосервис», г. Москва, «Вектогеп D – антитела-стрип», производства ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск, «Anti-HBcEIA» CobasCore, Хоффманн Ла Рош (Швейцария). Количественное определение анти-HBs проводили с использованием иммуноферментной тест-системы «anti-HBsQuantEIAIIRoche» на автоматическом анализаторе CobasCoreII, фирмы «HoffmannLaRoche» (Швейцария). Методом ПЦР выделяли РНК HCV-количественный с последующим генотипированием HCV, ДНК HBV-количественный, РНК HDV-качественный.

Результаты

Анализ представленных исследований показал, что среди населения республики имеет место высокая доля серопозитивных лиц по всем вирусным гепатитам с максимальными показателями гепатита С в группе условно здоровых лиц (23,2%), гепатита В (20,2%), гепатита Е (21,2%). Настораживает высокое инфицирование HBsAg-позитивных лиц маркерами вируса гепатита D (30%). Примерно 40% территории Якутии располагается за Полярным кругом. В связи с этим эндемичный для тропических стран вирусный гепатит Е не подлежала тестированию больных вирусным гепатитом и также при мониторинговых исследованиях. Наши исследования показали высокую циркуляцию вируса Е среди условно здоровых и больных ВГ – 21,2% и 22,4% соответственно. Однако наличие антител к вирусу гепатита не позволяет судить об уровне инфицированности населения, так как антитела могут сохраняться пожизненно у реконвалесцентов после перенесенного острой формы вирусного гепатита или антитела могут не сформироваться у лиц с иммуносупрессией. Для оценки истинной инфицированности нами были проведены дополнительные исследования по оценке частоты выявления ДНК вируса В (HBV), РНК вируса С (HCV), РНК вируса G (HGV) среди серопозитивных лиц. Обнаружения до 70% ДНК HBV и 69,3% РНК HCV, у серопозитивных условно здоровых обследуемых свидетельствует о высокой активности вирусной В- и С-инфекции в исследуемой популяции.

Проведенные нами дальнейшие исследования показали, что серологическая и молекулярно-биологическая характеристика хронического гепатита В и С в республике отличаются повышенной репликативной активностью вирусов более чем у 3/4 больных и высокой степенью заражения 2-мя, 3-мя и даже 4-мя другими вирусами гепатита (mixed-инфекция). Так среди 19 больных с хроническим гепатитом В маркеры гепатита С встречались 31,5 % случаев, при этом вирус (РНК HCV) обнаруживался в 21,0% случаев. Анти HEV IgG выявлены у 21,0% (4 из 19). Похожая ситуация складывается у больных хроническим вирусным гепатитом С. Среди 68 больных хроническим гепатитом С часто выявляются маркеры гепатита В (HBsAg), гепатита D, гепатита Е (по сути, четырехкратная инфекция (HCV+HBV+HDV+HEV) в 11,7%, 4,4% и 25% случаев соответственно. В регионе выявлена высокая частота обнаружения моно HGV-инфекции, в то время как многими авторами признается, что гепатит G как моноинфекция встречается редко и чаще ассоциируется с вирусными гепатитами В и С. Так в группе условно-здоровых лиц моно HGV-инфекции определяли в 85,7% случаев. В то же время была зафиксирована в значительно меньшем количестве моно HGV-инфекция среди больных с различными формами парентеральных вирусных гепатитов, всего в 66,7% случаев. В группе условно-

здоровых лиц всего в одном случае был выявлен микст гепатит G и был ассоциирован с 1b генотипом вируса гепатита C. Во второй группе среди больных парентеральными вирусными гепатитами в большинстве случаев вирус гепатита G был больше ассоциирован с гепатитом B, нежели с гепатитом C. Из пяти случаев гепатита G в трех случаях гепатит G был связан с вирусом гепатита B, причем в двух случаях были в связи с генотипом A вируса гепатита B, в одном случае – генотипом DHBV. Также выявлен микст гепатит G с гепатитом C, а именно 1b генотипом вируса. Среди больных ВГВ частота РНК HGV выше, чем среди «условно здоровых» - 10,7% против 3,7 ($\chi^2=6,2$; $p=0,013$).

Обсуждение и выводы

Таким образом, по результатам серологических, молекулярно-биологических исследований констатирована высокая заболеваемость и инфицированность населения республики всеми известными вирусами гепатита. Также выявлена повышенная циркуляция в арктической зоне России такого вируса гепатита, как E, ранее считавшийся тропической инфекцией. Нами изучена распространенность гепатита G, относящегося к редко встречаемым вирусам. В республике зафиксирована высокая доля распространенности именно моноинфекции вируса G (78,3%), его сочетание с вирусом B лишь в 13% случаев, с гепатитом C – в 8,7%. В отечественной литературе описываются случаи этого гепатита только с гепатитов B и C, моноинфекция гепатита G описывается как крайне редкий случай.

В результате проведенных молекулярно-биологических исследований сывороток крови на обнаружение РНК вируса HGV установлены следующие характеристики и особенности:

- впервые выявлен гепатит G у населения республики;
- показана высокая доля обнаружения моно HGV-инфекции, которая составила 78,3%;
- зафиксировано сочетание с другими вирусами гепатита B и C лишь в 22,7% случаев, причем в 13% случаев гепатит G в качестве микст-инфекции встречается с гепатитом B и в 8,7% - с гепатитом C;
- выявлена преимущественная ассоциация вируса G с генотипом 1b вируса гепатита C и генотипом A вируса гепатита B.

Возможно, гепатиту G в настоящее время недостаточно внимания уделяется в практическом здравоохранении, тем не менее изучение данного вируса, его эпидемиологии может быть весьма перспективно для получения новых знаний о природе парентеральных вирусных гепатитов, явлений, еще не известных в медицинской науке и в инфектологии в частности.

Работа проведена в рамках проекта ГЗ №-14.6344.2017/БЧ.

Литература

1. Инфекционная гепатология: руководство для врачей / В.Ф.Учайкин, Т.В. Череднеченко, А.И. Смирнов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. – С.154.
2. Semjonov S.I., Savvin R.G., Nikitina S.G., Maximova S.S., Sleptsova S.S. Parenteral viral hepatitis (B, C, D) in the Sakha Republic (Yakutia) /Life Science Journal 2014;11(8s). P.454-458.
3. Armstrong G.L., Alter M.J., McQuillan G.M., Margolis H.S. // Hepatology.2000. V. 31. P. 777-782.
4. Berkes J., Cotler S.J. // Gurrent Hepatitis Report. 2005. V. 4. P. 125-129.
5. Lapa D, Capobianchi M.R, Garbuglia A.P. et al., Epidemiology of Hepatitis E Virus in European Countries. Int J Mol Sci. 2015 Oct 27;16(10):25711-43.

РИСК-ОРИЕНТИРОВАННЫЙ ПОДХОД К РАНЖИРОВАНИЮ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ ОПАСНОСТИ ТЕРРИТОРИЙ, ЭНДЕМИЧНЫХ ПО КЛЕЩЕВОМУ ВИРУСНОМУ ЭНЦЕФАЛИТУ

Сергеев А.Г.^{1,3}, Мищенко В.А.^{1,4}, Быков И.П.¹, Романенко В.В.³, Чистякова Л.Г.²,
Алимов А.В.¹

¹ФБУН «Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций»
Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, Россия, e-mail: virus@eniivi.ru

²Управление Роспотребнадзора по Свердловской области, г. Екатеринбург, Россия, e-mail:
mail@66.rospotrebnadzor.ru

³ФБГОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г.
Екатеринбург, Россия, e-mail: usma@usma.ru

⁴ФГБУН «Институт экологии растений и животных» УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия
common@ipae.uran.ru

Ключевые слова: клещевой вирусный энцефалит, вакцинопрофилактика, показатель риска
заболевания.

RISK-BASED APPROACH TO RANKING BIOLOGICAL HAZARD OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS ENDEMIC AREAS

A.G. Sergeev^{1,3}, V.A. Mishchenko^{1,4}, I.P. Bykov¹, V.V. Romanenko³, L.G. Chistyakova², A.V.
Alimov¹

¹FBIS (Federal Budgetary Institution of Science), “Yekaterinburg Research Institute of Viral
Infections” of Rosпотrebnadzor (Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection
and Human Wellbeing), Yekaterinburg, Russian Federation, e-mail: virus@eniivi.ru

²Directorate of Rosпотrebnadzor for Sverdlovsk Oblast, Yekaterinburg, Russian Federation, e-mail:
mail@66.rospotrebnadzor.ru

³FSBEI HE (Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education) “Ural State
Medical University”, Ministry of Health of the Russian Federation, Yekaterinburg, Russian
Federation, e-mail: usma@usma.ru

⁴FPFIS (Federal Publicly Funded Institution of Science) “Institute of Plant and Animal Ecology”,
UrD RAS (Ural Department of the Russian Academy of Science), Yekaterinburg, Russian
Federation
common@ipae.uran.ru

Key words: tick-borne viral encephalitis, vaccinal prevention, disease risk index.

Введение

За последние 20 лет, благодаря активной целенаправленной профилактической работе
эпидемиологической службы Роспотребнадзора Свердловской области (СО), удалось
достичь существенных результатов по снижению заболеваемости клещевого вирусного
энцефалита (КВЭ). С 1997 г. в рамках областной программы проводится массовая
вакцинация населения против КВЭ, которая позволила снизить заболеваемость КВЭ более
чем в 15,6 раз (с 42,9 в 1996 г. до 2,45 на 100 тыс. населения в 2018 г.). С 2015 г. показатель
заболеваемости КВЭ остается на уровне менее 3 на 100 тыс. населения. Охват населения

области прививками против КВЭ в 2018 г. достиг 87,4 %. Основную долю среди заболевших КВЭ составляют не привитые лица, и только 4–6 % больных КВЭ имеют законченный курс иммунизации, при этом у привитых заболевших регистрируются, в основном, легкие лихорадочные формы КВЭ, а показатель эпидемиологической эффективности иммунопрофилактики составляет более 90 %.

Случаи заболевания КВЭ неравномерно распределены по территории области и регистрируются на 80 % административных территорий. На 8 административных территориях СО показатели заболеваемости превышают среднеобластной уровень в 2–5 раз. Наибольший уровень заболеваемости регистрируется среди городского населения. На долю жителей г. Екатеринбурга ежегодно приходится более 50 % случаев заболевания КВЭ, а показатель заболеваемости ежегодно превышает среднеобластной показатель (в 2017 г. – 4,12 и 2,75 на 100 тыс. населения, соответственно), при этом охват профилактическими прививками населения г. Екатеринбурга составляет 89,2 %.

Сравнительный анализ карт ранжирования территории области по таким показателям, как заболеваемость КВЭ и средняя численность клещей, показывает, что уровень заболеваемости КВЭ населения, проживающего на той или иной территории, в большинстве случаев не имеет сильной связи с показателями высокой, средней или низкой заклещевленности.

Так, зона высокой численности клещей локализуется на юге и юго-западе области, в то время как территории с высокими показателями заболеваемости населения КВЭ расположены в меридиональном направлении с севера на юг в подзонах средней и южной тайги. Анализ показал, что на ряде территорий отмечается несоответствие показателей количества пострадавших от присасывания клещей и заболеваемости КВЭ, то есть вероятность (риск) развития манифестной формы заболевания после присасывания клеща у населения, проживающего на разных территориях, имеет существенные различия. Основными факторами, от которых зависит величина этого показателя, являются уровень коллективного иммунитета населения, проживающего на данной территории, активность и вирусофорность местной популяции клещей, а также степень вирулентности циркулирующих штаммов ВКЭ.

Цель исследования: на основании анализа многолетней динамики основных показателей эпидемического процесса КВЭ в СО разработать методику ранжирования административных территорий по показателю риска развития манифестной формы заболевания у пострадавших от присасывания клеща.

Материал и методы

В работе использовали данные формы № 2 государственной статистической отчетности «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области» Роспотребнадзора. Данные о количестве пострадавших от укусов клещей и охвата населения прививками против КВЭ получены из материалов ежегодных отчетов Управления Роспотребнадзора по СО о санитарно-эпидемиологическом благополучии населения.

За показатель риска принимали вероятность развития манифестной формы заболевания КВЭ у пострадавших от присасывания клеща, а именно, количество пострадавших, обратившихся по поводу присасывания клеща, приходящихся на один случай заболевания КВЭ. Вычисление индекса риска проводили путем нахождения отношения показателя риска

административной территории к среднеобластному показателю риска, который принимали за единицу.

Результаты

Пиковое значение показателя заболеваемости КВЭ в СО (42,9 на 100 тыс. населения) наблюдалось в 1996 г. В первые 6 лет проведения массовой вакцинации (1997–2002 гг.) отмечались существенные колебания уровня заболеваемости (8,9–19,3 на 100 тыс. населения). Среднеобластной показатель риска в этот период времени составлял от 47 до 67 пострадавших от присасывания клеща на один случай заболевания. После достижения охвата прививками более 60 % населения происходило ежегодное снижение заболеваемости и параллельное снижение риска возникновения заболевания у пострадавших от присасывания клеща. Благодаря проводимой в течение 20 лет массовой вакцинопрофилактики КВЭ, в 2018 г. показатель заболеваемости снизился до 2,45 на 100 тыс. населения, а показатель риска в 6,4 раза (один случай заболевания на 319 пострадавших). Однако, до настоящего времени, на некоторых территориях СО с высоким процентом охвата населения прививками заболеваемость КВЭ превышает среднеобластной показатель в 2–4 раза, а индекс риска составляет от двух до семи. Такое соотношение уровня заболеваемости и показателя риска свидетельствует о недостаточной степени защищенности населения и требует детального анализа эффективности результатов вакцинопрофилактики.

На ряде территорий отмечается иная ситуация: уровень заболеваемости близок к среднеобластному, а индекс риска составляет менее единицы за счет высоких показателей пострадавших от присасывания клеща. На таких территориях для снижения заболеваемости следует принять меры по повышению эффективности акарицидных обработок и улучшению санитарно-просветительной работы среди населения по распространению знаний о правилах безопасного поведения в лесу в период эпидемического сезона по КВЭ.

Риск-ориентированный подход к ранжированию эпидемиологической опасности территорий, эндемичных по КВЭ включает:

- определение ежегодных показателей риска возникновения манифестной формы КВЭ у пострадавших от присасывания клещей на территории субъекта (область, край, республика) и административных территориях, где регистрируются случаи заболевания КВЭ;

- ранжирование эндемичных по КВЭ административных территорий по индексу риска (отношение к показателю риска субъекта);

- анализ и устранение причин высокого риска возникновения манифестных форм КВЭ на административных территориях, где значение индекса риска $\geq 1,3$;

- на эндемичных территориях с низким риском развития манифестных форм КВЭ (индекс риска $\leq 1,3$), высоким показателем пострадавших от присасывания клещей, достаточным уровнем охвата вакцинацией, следует принять меры по повышению эффективности акарицидных обработок и улучшению санитарно-просветительной работы среди населения по распространению знаний о правилах безопасного поведения в лесу в период эпидемического сезона по КВЭ.

15-ЛЕТНЯЯ ДИНАМИКА ФАКТОРОВ РИСКА ХРОНИЧЕСКИХ НЕИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В СТУДЕНЧЕСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Серебрякова В.Н.^{1,2}, Якимович И.Ю.², Мульдьярова Е.А.², Кавешников В.С.^{1,2}, Кавешников А.В.¹

¹*Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, Россия*

²*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск, Россия*
vsk75@yandex.ru

Ключевые слова: эпидемиология, факторы риска ХНИЗ, студенты.

15-YEAR DYNAMICS OF THE RISK FACTORS OF CHRONIC NON-COMMUNICABLE DISEASES IN THE POPULATION OF STUDENTS

Serebryakova V.N.^{1,2}, Yakimovich I.Yu.², Muldiyayarova E.A.², Kaveshnikov V.S.^{1,2}, Kaveshnikov A.V.¹

¹*Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Centre, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia*

²*Siberian State Medical University, Ministry of Healthcare of Russian Federation, Tomsk, Russia*
vsk75@yandex.ru

Key words: epidemiology, risk factors, chronic non-communicable diseases, students.

Введение

Одной из ведущей медико-социальной проблемой российского здравоохранения продолжает оставаться высокая распространенность факторов риска (ФР) хронических неинфекционных заболеваний (ХНИЗ) среди трудоспособного населения. Особый научный интерес в этом плане представляет студенческая молодежь, являющаяся интеллектуальными и обороноспособным потенциалом страны. Изучение ФР ХНИЗ среди молодежи продолжает оставаться актуальным, так как полученные данные позволяют спрогнозировать затраты здравоохранения на будущее и спланировать профилактические мероприятия в этой группе населения.

Цель

Оценить 15-летнюю динамику некоторых ФР ХНИЗ среди студентов г. Томска на основе двух независимых эпидемиологических исследований.

Материал и методы

Объектом исследования явились юноши студенты 3 курса СибГМУ и ТГУ, проводимые в 2002 и 2017 гг. по программе кардиологического скрининга. Всего обследовано в 2002 г. (скI) – 178, а в 2017 году (скII) – 159 юношей. Перед проведением обследования юноши в обоих исследованиях подписывали информированное согласие. Гигиеническую оценку

проводили с помощью стандартной анкеты программы CINDI/ВОЗ. Статистическая обработка проводилась с помощью STATISTIKA 10.0.

Результаты

По данным проведенных исследований уровень информированности и осведомленности студентов о ФР ХНИЗ на протяжении 15 лет, разделяющие оба исследования, продолжает оставаться достаточно низким. Так, на первое место по значимости в иерархии ФРХНИЗ обоих независимых исследований поставили такой ФР, как стресс – 29,7% (скI) и 28,6% (скII, $p<0,05$) на второе – гиподинамию и на третье – нарушение питания. Анализ показал, что за 15 лет, разделяющие исследования, отмечается неблагоприятная динамика в отношении употребления пищи богатой насыщенными жирами и холестерином. Так, на скI отдавали предпочтение нездоровой диете в целом 46,5% студентов, а на скII уже – 54,0% ($p<0,05$). Напротив, в обсуждаемый период времени отмечается снижение потребление алкоголя с 86,3% (скI) до 70,1% (скII, $p<0,05$). Также за 15 лет отмечено в 3,9 ($p<0,05$) раза снижение регулярного курения среди студентов: скI – 36,8%, а во время скII – 9,3% ($p<0,05$). Аналогичная ситуация наблюдалась и в отношении низкого уровня физической активности ($p<0,05$). Вместе с тем отмечено неблагоприятная динамика в отношении психоэмоционального напряжения и уровня тревоги, особенно среди студентов медиков ($p<0,05$).

Выводы

Исследование показало, что за анализируемый период времени отмечена неблагоприятная динамика эпидемиологической ситуации в отношении алиментарных и психосоциальных ФР ХНИЗ. Не отмечено никаких благоприятных изменений в отношении уровня информированности и осведомленности в студенческой популяции за 15 лет, разделяющие исследования. В то же время зафиксированы изменения в благоприятную сторону в отношении таких ФР ХНИЗ как курение, уровень физической активности. Полученные результаты обосновывают целесообразность планирования и проведения профилактических мероприятий (Школ здоровья) среди студенческой молодежи.

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ И РАСПРОСТРАНЕНИЯ СИБИРСКОГО СУБТИПА ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

¹Ткачев С.Е., ¹Бабкин И.В., ²Чичерина Г.С., ³Козлова И.В., ⁴Верхозина М.М., ⁵Демина Т.В., ³Лисак О.В., ³Дорощенко Е.К., ⁶Джиоев Ю.П., ³Сунцова О.В., ¹Белокопытова П.С., ¹Тикунов А.Ю., ³Савинова Ю.С., ³Парамонов А.И., ²Глунов В.В., ⁶Злобин В.И., ¹Тикунова Н.В.

¹ *Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск;*

² *Институт систематики и экологии животных СО РАН, г. Новосибирск;*

³ *Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, г. Иркутск;*

⁴ *Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области, г. Иркутск;*

⁵ *Иркутский государственный аграрный университет им. А.А. Ежевского, г. Иркутск;*

⁶ *Иркутский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Иркутск*

Ключевые слова: вирус клещевого энцефалита, сибирский субтип, генетические линии.

SIBERIAN SUBTYPE TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS SPREADING AND GENETIC DIVERSITY ANALYSIS

¹Tkachev S.E., ¹Babkin I.V., ²Chicherina G.S., ³Kozlova I.V., ⁴Verhozina M.M., ⁵Demina T.V., ³Lisak O.V., ³Doroshenko E.K., ⁶Dzhioev Yu.P., ³Suntsova O.V., ¹Belokopytova P.S., ¹Tikunova A. Yu., ³Savinova Yu. S., ³Paramonov A. I., ²Glupov V. V., ⁶Zlobin V. I., ¹Tikunova N.V.

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk;*

²*Institute of systematics and ecology of animals SB RAS, Novosibirsk;*

³*Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk;*

⁴*Center for Hygiene and Epidemiology in Irkutsk Region, Irkutsk;*

⁵*Irkutsk State Agrarian University named after A.A. Ezhevsky, Irkutsk;*

⁶*Irkutsk State Medical University, Irkutsk.*

Key words: tick-borne encephalitis virus, Siberian subtype, genetic lines.

Введение

Вирус клещевого энцефалита (ВКЭ), представитель семейства Flaviviridae, является возбудителем тяжелого заболевания нервной системы человека. В настоящее время ВКЭ разделяют на три субтипа: дальневосточный, сибирский (ВКЭ-Сиб) и европейский. До недавнего времени, для ВКЭ-Сиб описывали три генетические линии: Заусаев, Васильченко и Балтийскую [1].

Цель исследования

Целью данной работы являлся сравнительный анализ имеющихся последовательностей ВКЭ-Сиб из базы данных GenBank, определенных нами последовательностей штаммов ВКЭ-Сиб с территории Западной и Восточной Сибири, Боснии и полуострова Крым, а также данных литературы по выявлению ВКЭ-Сиб в различных регионах Евразии.

Материал и методы

С помощью разработанной панели олигонуклеотидов и секвенирования по Сэнгеру, определяли последовательности гена E или полногеномных последовательностей штаммов ВКЭ-Сиб, выделенных на различных территориях ареала встречаемости ВКЭ. Анализ последовательностей проводили в программе MEGA 6.0 [2] с использованием последовательностей гена E ВКЭ или полногеномных последовательностей штаммов из базы данных GenBank. Уровни сходства последовательностей вычисляли с использованием пакета программ Unipro UGENE v. 1.22 [3]. Построение хронограмм проводили в программе BEAST 1.8 [4,5].

Результаты и их обсуждение

Анализ полногеномных последовательностей или последовательностей гена E штаммов ВКЭ-Сиб, выделенных в различных регионах ареала встречаемости ВКЭ, выявил неописанные ранее генетические линии Обская и Боснийская. Анализ уровней сходства кодирующих частей генома штаммов различных генетических линий ВКЭ-Сиб показал, что линия Обская наиболее сильно отличается от других генетических линий. Было показано, что линия Заусаев является наиболее распространенной среди линий ВКЭ-Сиб, и встречается от северо-западной и центральной России до Забайкалья и Центральной и Средней Азии. Ареал распространения линии Васильченко смещен восточнее, и представители данной линии были найдены от Западной Сибири и Центральной и Средней Азии до Дальнего Востока. Представители Балтийской линии были выделены в Балтийских странах, северо-западной и центральной России, на Урале и в Западной Сибири. Линия Обская на данный

момент была обнаружена только на территории Западной Сибири. Штаммы ВКЭ-Сиб Боснийской линии были выделены в южной части ареала обитания ВКЭ – в Боснии, на полуострове Крым, в Казахстане и Кыргызстане. Анализ хронограммы показал, что внутри ВКЭ-Сиб Обская линия отделилась от общего предка наиболее рано, потом произошло отделение Боснийской линии, затем Балтийской, а разделение линий Заусаев и Васильченко случилось наиболее поздно.

Выводы

Таким образом, показано, что ВКЭ-Сиб является наиболее генетически варибельным субтипом ВКЭ и широко распространен по всему ареалу вируса. Полученные данные следует учитывать при разработке тест-систем для выявления ВКЭ.

Исследование поддержано Программой фундаментальных научных исследований государственных академий наук (проект № #АААА-А17-117020210027-9), государственным заданием №0542-2014-0006, а также РФФИ и Правительством Новосибирской области (проект №18-44-540021).

Литература

1. Dobler G., Tkachev S. General epidemiology of TBE. Chapter 11. In: Dobler G., Erber W., Bröker M., Schmitt H.J., eds. The TBE Book. 2nd ed. Singapore: Global Health Press; 2019. doi: 10.33442/978-981-14-0914-1_11
2. Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipiński, A., Kumar, S., 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Mol. Biol. Evol. 30, 2725-2729. doi: 10.1093/molbev/mst197.
3. Okonechnikov, K., Golosova, O., Fursov, M., The UGENE Team, 2012. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. Bioinformatics. 28, 1166–1167. doi: 10.1093/bioinformatics/bts091.
4. Drummond, A.J., Nicholls, G.K., Rodrigo, A.G., Solomon, W., 2002. Estimating mutation parameters, population history and genealogy simultaneously from temporally spaced sequence data. Genetics. 161(3), 1307–1320.
5. Drummond, A.J., Rambaut, A., 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. BMC Evol. Biol. 7, 214–221. doi: 10.1186/1471-2148-7-214.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОМПЛЕКСНОГО ПОДХОДА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ЭТИОЛОГИИ ЗАБОЛЕВАНИЯ У ПАЦИЕНТОВ В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИСАСЫВАНИЯ КЛЕЩА

^{1,2} Филимонова Е.С., ³ Бондаренко Е.И., ^{1,2} Краснова Е.И., ³ Криницына Э.В., ¹ Рахматова У.И., ¹ Лобанов Л.И., ² Позднякова Л.Л.

¹Новосибирский государственный медицинский университет МЗ РФ, Новосибирск, Россия;

²Городская инфекционная клиническая больница №1, Новосибирск, Россия;

³АО «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия

ev.smirnova@mail.ru

Ключевые слова: инфекции, передающиеся клещами, полимеразная цепная реакция, иммуноферментный анализ

THE USE OF COMPLEX APPROACH TO IDENTIFY THE ETIOLOGY OF THE DISEASE IN PATIENTS AFTER TICK'S BITE

^{1,2} Filimonova E.S., ³ Bondarenko E.I., ^{1,2} Krasnova E.I., ³ Krinitsina E.V., ¹ Rakhmatova U.I., ¹ Lobanov L.I., ² Pozdnyakova L.L.

¹Novosibirsk State Medical University of MH of the Russian Federation, Novosibirsk, Russia;

²City Infectious Clinical Hospital No.1, Novosibirsk, Russia;

³АО «Vector-Best», Novosibirsk, Russia

ev.smirnova@mail.ru

Keywords: tick-transmitted infections, polymerase chain reaction, ELISA test

Введение

Территория Российской Федерации (РФ) является обширным ареалом распространения природно-очаговых болезней, в том числе, передающихся клещами, включающим в себя иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ), вирусный клещевой энцефалит (КЭ), сибирский клещевой тиф (СКТ) и другие инфекции [1, 2]. Данные инфекции, передающиеся клещами (ИПК), представляют собой серьезную проблему для здравоохранения страны вследствие роста числа антропоургических очагов этих инфекций в пригородах и на территории городов. Одной из основных особенностей ИПК является многообразие возбудителей и их способность существовать совместно в одном клеще, вызывая микст-формы инфекций в разных сочетаниях. Сибирский регион является одной из территорий с наибольшими показателями заболеваемости ИПК. Для Новосибирской области (НСО) эпидемиологическая обстановка по вирусному КЭ, ИКБ и СКТ, как и по ряду зоонозных инфекций, сохраняется неблагоприятной [3].

Дифференциальная диагностика природно-очаговых инфекций представляет проблему для лечащего врача, так как для них характерны сходные клинические проявления, особенно в начальном периоде: лихорадка, симптомы интоксикации, ломота в теле, озноб и др. Поэтому, для повышения точности диагностики ИПК необходимо использовать комплекс лабораторных методов, включающий выявление у обследуемых серологических и молекулярно-генетических маркеров всех возбудителей данных инфекций, циркулирующих на территории конкретного региона [4].

Целью исследования являлось установление частоты выявления инфекций, передающихся клещами, у госпитализированных больных с лихорадкой и присасыванием/наползанием клеща в анамнезе с помощью комплексного лабораторного обследования с использованием методов полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) и иммуноферментного анализа (ИФА) и оценкой значимости полученных результатов для дифференциальной диагностики инфекций.

Материал и методы

Обследовано 325 больных в возрасте от 15 до 87 лет, поступивших на лечение в Городскую инфекционную клиническую больницу №1 г. Новосибирска с мая по август 2018 г. Критериями отбора пациентов для комплексного обследования с целью выявления маркеров возбудителей ИПК являлось лихорадочное состояние больных и факт присасывания/наползания клеща до начала заболевания, либо посещение лесопарковой зоны. Для анализа методом ПЦР-РВ использовали суммарные нуклеиновые кислоты (НК), выделенные из цельной крови (ЦКр) и лейкоцитарной фракции крови (ЛФК). Также, были

исследованы образцы спинномозговой жидкости (СМЖ) отдельных больных и образцы смывов, взятые с первичного аффекта (ПА) или с места присасывания клеща.

Выделение суммарных НК осуществляли с помощью наборов «РеалБест экстракция 100» (Вектор-Бест, Новосибирск). Комплексное ПЦР-исследование по оценке зараженности пациентов возбудителями ИПК проводили с помощью коммерческих тестов: «РеалБест ДНК *Borrelia burgdorferi* s.l./РНК ВКЭ», «РеалБест ДНК *Borrelia miyamotoi*», «РеалБест ДНК *Rickettsia species*», «РеалБест ДНК *Rickettsia sibirica/Rickettsia heilongjiangensis*» (Вектор-Бест, Новосибирск), а также экспериментальные лабораторные версии ПЦР-РВ для выявления ДНК-маркеров *S. burnetii* и *F. tularensis*. Серологические исследования проводили методом ИФА с помощью наборов реагентов «ВектоВКЭ-IgM», «ЛаймБест-IgM», «ЛаймБест-IgG» (Вектор-Бест, Новосибирск) и «ИФА-анти-Ку комплект №1 (выявление IgG-антител к возбудителю Ку-рикетсиоза)» (НИИ эпидемиологии и микробиологии Пастера, Санкт-Петербург).

Результаты и обсуждение

Диагноз «клещевой энцефалит» подтвержден 73 больным, что составило 22,5% от всех госпитализированных. Для лабораторной диагностики КЭ в сыворотке крови больных, госпитализированных с лихорадочным состоянием после присасывания клеща, с помощью ИФА определяли специфические IgM-антитела к ВКЭ, а в образцах ЛФК и ЦКр методом ПЦР-РВ выявляли РНК этого вируса. Результаты серологического исследования были положительными у 73 из 325 (22,6%) пациентов, а при проведении ПЦР генетический материал ВКЭ был выявлен у 7 (2,2%). При этом у 5 из 7 пациентов одновременно обнаружены и антитела к ВКЭ, и вирусная РНК. Низкая выявляемость РНК ВКЭ в крови пациентов отмечена и ранее [5]. Установлено, что период виремии составляет от 2 до 7 дней от момента проникновения вируса после присасывания инфицированного клеща [4]. По всей видимости, с этим и связана низкая выявляемость РНК вируса методом ПЦР в образцах крови людей.

Иксодовые клещевые боррелиозы – природно-очаговые инфекции с трансмиссивным путем передачи через клещей, вызываемые патогенными боррелиями. В наших исследованиях диагноз ИКБ был подтвержден в 102 случаях заболевания. В его клинической картине по-прежнему преобладали эритемные формы. Клинически диагноз «ИКБ, эритемная форма» выставлен в 77 случаях, что составило 23,7% от всех обследуемых, из них методом ИФА диагноз подтвержден только в 9 случаях. При тестировании образцов крови пациентов методом ПЦР-РВ выявить ДНК *B. burgdorferi* s.l. удалось у 6 человек, что подтверждает редкое присутствие данных боррелий в крови. Из них серологически диагноз болезни Лайма подтвержден в трех случаях.

Установлено, что заболевание, вызываемое *B. miyamotoi* (БМЗ), в НСО в 2016–2017 гг. занимало 3 место в структуре клещевых инфекций, после иксодового клещевого боррелиоза, вызванного *B. burgdorferi*, и клещевого энцефалита. Отмечено, что отсутствие мигрирующей эритемы, слабость, высокая лихорадка длительностью от 1–10 суток, иногда рецидивирующая, выраженные проявления интоксикации, артралгии, лейкоцитоз с относительным нейтрофилезом характерны для БМЗ [6]. В наших исследованиях ДНК-маркер *B. miyamotoi* обнаружен в 39 (12%) образцах крови.

Диагностика клещевых риккетсиозов, и в частности, СКТ, вызываемого *Rickettsia sibirica*, проводилась клинически (наличие первичного аффекта в месте укуса клеща, регионарного лимфаденита, пятнисто-папулезной сыпи и симптомов интоксикации), а также

с учётом эпидемиологического анамнеза. При тестировании образцов ЛФК и ЦКр от 325 больных с помощью лабораторной версии набора реагентов «РеалБест ДНК *Rickettsia species*» (Вектор-Бест, Новосибирск) ДНК-маркер риккетсий был выявлен в 9 (2,7%) случаях.

ДНК *Coxiella burnetii*, возбудителя Ку-лихорадки, методом ПЦР обнаружена в крови у 9 пациентов (2,8% от всех обследуемых больных с «клещевым» анамнезом). Три положительных случая подтверждены с помощью секвенирования ДНК из выделенной крови больных по генам *groEL* и *IS1111C. burnetii*. При исследовании сывороток на этапе госпитализации больных в стационар антител класса G к антигенам *C. burnetii* не было найдено, а через 6 месяцев у четырех больных обнаружены IgG.

В результате проведенного исследования с помощью ПЦР-РВ на наличие ДНК возбудителя *Francisella tularensis* в ЦКр и ЛФР ни у одного из 325 больных с лихорадочным состоянием, возникшим после присасывания клеща, выявить генетический маркер туляремийного микроба не удалось.

Выводы

В результате комплексного лабораторного обследования 325 больных, госпитализированных в инфекционный стационар с заболеванием, развившимся после присасывания или напоздания клеща, с использованием методов ПЦР и ИФА у 75 (23%) из них был диагностирован клещевой энцефалит, у 40 (12,3%) – иксодовые клещевые боррелиозы, вызванные боррелиями входящими в комплекс *Borellia burgdorferi sensu lato*, 39 (12%) – иксодовый клещевой боррелиоз, вызванный *B. miyamotoi*, у 9 (2,7%) – сибирский клещевой тиф и у 9 (2,8%) – Ку-лихорадка. В целом, этиология лихорадочного состояния пациентов, пострадавших от нападения клеща, была установлена на ранней стадии болезни в 52,8% случаев. Эффективность лабораторной диагностики инфекций, переносимых клещами, может возрасти, если в России будут разрабатываться и использоваться диагностические тест-системы (для ПЦР и ИФА), позволяющие дифференцировать разные нозологические формы ИПК.

Литература

1. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году: Государственный доклад. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2018. – 254 с.
2. Проворова, В.В. Актуальные вопросы клещевых инфекций на современном этапе / В.В. Проворова [и др.] // Сибирский медицинский вестник. - 2018. - № 3. - С. 46-57.
3. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Новосибирской области в 2018 году». – Новосибирск, 2019. – 275 с.
4. Яковчиц, Н.В. Оценка диагностической значимости комплексного выявления маркеров инфекций, переносимых клещами, у пациентов, пострадавших от их присасывания / Н.В. Яковчиц [и др.] // Инфекционные болезни: новости, мнение, обучение. - 2016. - № 4. - С. 58-65.
5. Tkachev S.E., Fomenko N.V., Rar V.A., Igolkina Ya.P., Kazakova Yu.V., Chernousova N.Ya. PCR detection and molecular-genetic analysis of tick-transmitted pathogens in patients of Novosibirsk region, Russia. *IntJMedMicrobiol.* 2008; 298: 365–7. doi: 10.1016/j.ijmm.2007.12.010.
6. Краснова, Е.И. Особенности клинических проявлений и лабораторной диагностики возвратной клещевой лихорадки, вызванной *B. miyamotoi* в Новосибирской области /

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ MRSA, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ КРАСНОЯРСКОГО КРАЯ

Хохлова О.Е.¹, Перьянова О.В.², Сидоренко С.В.³, Ямамото Т.³

¹ФГОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России;

²Российско-Японский центр микробиологии, метагеномики и инфекционных заболеваний;

³Отдел молекулярной микробиологии и эпидемиологии, Федеральное Государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства»;

⁴Международный медицинский образовательно-исследовательский центр (IMERC) Ниигата, Япония

khokhlovaol@mail.ru

Ключевые слова: метициллинрезистентные *Staphylococcus aureus*, молекулярно-генетические особенности.

MOLECULAR GENETIC FEATURES OF MRSA CIRCULATING IN THE KRASNOYARSK REGION

Khokhlova O.E., Peryanova O.V., Sidorenko S.V., Yamamoto T.

¹Department of Microbiology named after B.M. Zelmanovich, Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Voyno-Yasenetsky;

²Russian-Japanese Center for Microbiology, Metagenomics and Infectious Diseases;

³Research Institute of Children`s Infection, St. Petersburg, Russia;

⁴International Medical Education and Research Center (IMERC) Niigata, Japan

khokhlovaol@mail.ru

Key words: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, molecular genetic features.

Введение

Метициллинрезистентный *Staphylococcus aureus* (MRSA) актуальный возбудитель инфекционных заболеваний, вызывающих значительный уровень заболеваемости и смертности во всем мире, являясь причиной как инфекций кожи и мягких тканей, так и тяжелых состояний, таких как сепсис, остеомиелит, эндокардит.

Материалы и методы

Объектами исследования явились 183 штамма MRSA, изолированных от здоровых бактерионосителей и из патологических материалов больных, находящихся на стационарном лечении в больницах г. Красноярска в период с 2007 по 2017 гг. Для выделения и идентификации микроорганизмов использовали бактериологический метод. Антибиотикочувствительность определяли диско-диффузионным методом на агаре Мюллера-Хинтона с использованием дисков OXOID (Великобритания); чувствительность стафилококков к оксациллину (Sigma-Aldrich, США), цефокситину OXOID (Великобритания) проводили методом скрининга, ПЦР; чувствительность стафилококков к другим антимикробным препаратам проводили методом серийных разведений в

соответствии с международными рекомендациями CLSI, EUCAST. Типирование MRSA – MLST, *sra* – секвенирование; *agr* и *SCCmec* – ПЦР, М-ПЦР; коагулазотипирование. Определяли 49 генов вирулентности - ПЦР. МПК к антимикробным препаратам – метод серийных разведений в среде Мюллера-Хинтона и Е-тест. Для определения плазмидного профиля плазмидную ДНК (Plasmid Midi Kit, QIAGEN Sciences, Токио), полученную из штаммов MRSA, анализировали с помощью горизонтального электрофореза в агарозе (0,6–1,0%). Механизмы резистентности определяли методами ПЦР, секвенирование. Качественные признаки представлялись в виде долей (%) и абсолютных чисел. В сравнительном анализе использовался двусторонний критерий Фишера. Уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты. Уровень носительства MRSA варьировал от 0,04% среди студентов до 4,2% среди детей, находящихся в доме ребенка. Наибольшую роль MRSA играет в развитии внебольничных инфекций у пациентов с флегмонами (21,6%), с термическими ожогами (20%), с абсцессами (18,9%), а также у пациентов с тяжелой внебольничной пневмонией (при исследовании крови – 25%). Наибольшую роль MRSA играет в развитии инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи у пациентов с ожогами (10–50-е сутки госпитализации – 62,2%), с хроническим остеомиелитом (51,4%), ВИЧ-инфицированных с пневмонией (50%), больных с госпитальной пневмонией (49,7%), с гнойно-некротическими осложнениями синдрома диабетической стопы (39,7%).

Клональная структура популяции MRSA на территории г. Красноярска, Красноярского края представлена двумя доминирующими линиями ST239, ST8, относящиеся к глобальным и двумя минорными линиями ST30, ST12, также относящиеся к глобальным. Из изученных 41% штаммов принадлежат к уникальному варианту ST239/*sra3*(t037)/*agr1*/SCCmecIII.1.1.2(IIIА)/*coaIV*/*tst+*, названному ST239_{Крас}. Штаммы ST239_{Крас} выделены от носителей, имевших факторы риска колонизации госпитальными штаммами, от госпитализированных пациентов с ИКМТ, ВИЧ-инфицированных, ожоговых больных (10–50 сутки), онкобольных, больных с остеомиелитом, сепсисом, госпитальной пневмонией. Из изученных 49,1% штаммов MRSA принадлежат к линии ST8/*sra1*(t008)/*agr1*/SCCmecIV.3.1.1/CoaIII/*sea+*, названы ST8_{Крас}. Штаммы ST8_{Крас} выделены от носителей, больных с ИКМТ, внебольничной и госпитальной пневмонией.

Штаммы ST239_{Крас} относятся к MDR с высоким уровнем МПК к имипенему и оксациллину, резистентны к аминогликозидам (97,3 % штаммов, *aacA-aphD* в транспозоне Tn4001, *aadD* в плазмиде pSK41), макролидам, линкозамидам (97,3 %, *ermA* в транспозоне Tn554), тетрациклинам (98,7 %, *tetM* в транспозоне Tn5801), фторхинолонам (97,3%, мутации в генах *GyrA*, *GrlA*), хлорамфениколу (*cat* в плазмиде Cpr), рифампицину (97,3%, мутации в гене *rpoB*), сульфаметоксазол/триметоприму, к ампициллину и пенициллину (ген *blaZ* в транспозоне Tn552), к акрифлавину, бензалконию хлориду, бензотониум хлориду, хлоргексидину (ген *qacA*) и кадмию (ген *cadD*). Штаммы ST8_{Крас} резистентны к фторхинолонам (91,1%, мутации в генах *GyrA*, *GrlA*), хлорамфениколу (69,5%, *cat* в плазмиде Cpr), аминогликозидам (16,7% , *aadD* в плазмиде pSK41), макролидам и линкозамидам (7,8%, *ermC* в плаزمиде pEmr/Clir), тетрациклинам (4,4%, *tetK* в плазмиде), ампициллину и пенициллину (12,6%, *blaZ* в плазмиде). Все штаммы были чувствительны к фузидиновой кислоте, к ванкомицину (10,4 % штаммов hVISA с уровнем МПК 2-3 мкг/мл; 0,5% VISA с уровнем МПК 4 мкг/мл), тейкопланину, линезолиду и мупиноцину.

Выводы

Таким образом, установлено, что на территории г. Красноярска, Красноярского края циркулирует два основных клонa MRSA – ST239 и ST8, отличающихся по уровню резистентности к антимикробным препаратам и вирулентности.

РАЗДЕЛ II

Труды студентов – участников конкурса студенческих работ

ВЛИЯНИЕ СТИМУЛЯЦИИ ИММУННОГО ОТВЕТА НА ТЕЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ У МЫШЕЙ

Аникина А. Ю.

ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт туберкулёза» Минздрава России, Новосибирск, Россия

anikina2018@inbox.ru

Ключевые слова: хроническая туберкулезная инфекция, туберкулез-специфические антигены, гранулематоз, микобактериальная нагрузка, цитокины.

THE EFFECT OF IMMUNE RESPONSE STIMULATION ON THE COURSE OF CHRONIC TUBERCULOSIS INFECTION IN MICE

Anikina A. U.

FSBI «Novosibirsk Tuberculosis Research Institute» Ministry of Health of Russian Federation, Novosibirsk, Russia

anikina2018@inbox.ru

Key words: chronic tuberculosis infection, tuberculosis-specific antigens, granulomatosis, mycobacterial load, cytokines.

Введение

Течение и исход туберкулеза во многом определяется взаимодействием патогена и иммунной системы человека. Большое количество исследований демонстрирует роль иммуносупрессии в развитии и течении туберкулезной инфекции [1, 2, 3]. В то же время в ряде публикаций показано, что избыточная активация различных звеньев иммунной системы может оказывать неблагоприятную роль, приводя к деструкции тканей и прогрессии заболевания [4, 5, 6]. Целью исследования явилось изучение активации специфического иммунного ответа туберкулез-специфическими антигенами ESAT-6 и CFP-10 на выраженность воспалительного ответа, микобактериальную нагрузку и цитокинопродукцию в экспериментальной модели туберкулезной инфекции у мышей.

Материалы и методы

Лабораторные мыши Balb/c возрастом 4 месяца были инфицированы вирулентным штаммом *M. tuberculosis* H37Rv внутривенно в дозе 5×10^6 на мыш. Через 4 недели после инфекции у мышей развился активный туберкулезный процесс, сопровождавшийся летальностью более 50% мышей, выраженной гранулематозной реакцией в селезенке, печени, легких. Затем активность ТБ-процесса уменьшилась (по данным гистологического исследования), летальности в последующие 2 месяца не было. На этом фоне мышам внутривенно были введены ТБ-специфические антигены ESAT-6 или CFP-10 в дозе 0.5 мкг(для стимуляции

иммунного ответа) на мышь. Животные выводились из эксперимента на 3-е и 4-е сутки. Выраженность гранулематозной реакции (количество гранулем на поле зрения) и микобактериальной нагрузки (количество МБТ на поле зрения) определяли при гистологическом исследовании легких, печени и селезенки после окраски препаратов гематоксилин-эозином и по Циллю-Нильсену. Уровень ИЛ-10 и ИФН-гамма определяли в плазме крови методом иммуноферментного анализа.

Результаты. По результатам гистологического исследования, на 3-сутки после введения антигенов в селезенке отмечалось незначительное количество гранулем: 0.028 на поле зрения (п.зр.) после введения CFP-10 и 0.004 на п.зр. после введения ESAT-6. На 4-е сутки количество гранулем поле введения ESAT-6 достоверно не увеличилось (0,04 на п.зр.). Но после внутривенного введения CFP-10 количество гранулем достоверно возросло в 12,5 раз (до 0.35 на п.зр.). Увеличилась также микобактериальная нагрузка: на 3-е сутки 0.0003 МБТ на п.зр., на 4-е сутки 0.1 МБТ на п.зр.

Аналогичные показатели получены при гистологическом исследовании печени. При иммунизации ESAT-6 на обоих сроках гранулематозный процесс и МБТ не определялись, при иммунизации CFP-10 на 3-й сутки оба показателя были на очень низком уровне (0,005 гранулем на п.зр. и 0,0025 МБТ на п.зр.). Но на 4-е сутки количество гранулем увеличилось до 0,35 (в 70 раз), а количество МБТ увеличилось до 0,1 (в 40 раз).

В легких у большинства животных на 3-й сутки после введения антигенов не было отмечено специфической патологии. Лишь у некоторых были признаки интерстициальной пневмонии при отсутствии МБТ. У животных группы CFP-10, выведенных на 4-ую сутки имела специфическая липидно-интерстициальная пневмония, иногда встречались некрозы, по объему соответствующие 30-50 клеткам, во всех препаратах присутствовали МБТ.

Через 48 часов после введения как ESAT-6 так и CFP-10 содержание ИЛ-10 в плазме крови практически не изменялось (121,1 пг/мл в контроле без антигена, 126,1 пг/мл и 107,5 пг/мл в группах ESAT-6 и CFP-10 соответственно). В то же время, через 72 часа в группе животных с введением CFP-10 отмечался значительный прирост содержания ИЛ-10 более, чем в 3 раза (365,1 пг/мл).

Через 48 часов после введения туберкулезного антигена ESAT-6 содержание ИФН-гамма в плазме крови достоверно не менялось, но в то же время после введения SFP-10 отмечено увеличение содержания ИФН-гамма в 2.4 раза (421,4 пг/мл по сравнению с 179,6 пг/мл в контроле). Через 72 часа это соотношение составило 3,1 (831,7 пг/мл при добавлении CFP-10 и 269,6 пг/мл в контроле без антигена).

Обсуждение и выводы

Стимуляция противотуберкулезного иммунного ответа специфическим для микобактерии туберкулеза антигеном CFP-10 (но не ESAT-6) вызывало значительное усиление воспалительной гранулематозной реакции, что сопровождалось усилением микобактериальной нагрузки в целевых для данной экспериментальной модели органах, приводя в ряде случаев к некрозу и признакам деструкции. Данные гистологического исследования коррелировали с содержанием про- и противовоспалительных цитокинов в плазме крови, причем прирост содержания ИФН-гамма начинался раньше, чем ИЛ-10.

Полученные данные свидетельствуют о возможном обострении хронического туберкулезного процесса при специфической стимуляции противотуберкулезного иммунитета, дополняют

сведения [7] об иммунопатогенезе туберкулезной инфекции и потенциальном использовании иммуномодулирующих препаратов.

Литература

1. Ерохин В.В. О некоторых механизмах патогенеза туберкулеза // Проблемы туберкулеза. – 2009. – № 11. – С. 3–9.
2. Е.Г. Чурина, О.И. Уразова, В.В. Новицкий. Регуляторные Т-клетки и противотуберкулезный иммунитет. – Томск: Изд-во «Печатная мануфактура», 2014. – 156 с.
3. A.V. Martynov, T.V. Bomko et al. Tuberculosis as infectious pathology of immune system // Annals of Mechnikov Institute. – 2016. – № 3. – P. 8-11.
4. R.L. Hunter, J.A. Actor et al. Pathogenesis of post primary tuberculosis: immunity and hypersensitivity in the development of cavities // Annals of Clinical and Laboratory Science. – 2014. – Vol. 44. – N. 4. – P. 365-387.
5. J.L. Taylor, O.C. Turner et al. Pulmonary necrosis resulting from DNA vaccination against tuberculosis // Infection and Immunity. – 2003. – Vol. 71. – N. 4. – P. 2192-2198.
6. A.L. Moreira, L. Tsenova et al. Mycobacterial antigens exacerbate disease manifestation in Mycobacteria tuberculosis-infected mice // Infection and Immunity. – 2002. – Vol. 70. – N. 4. – P. 2100-2107.
7. T.R. Hawn, A.I. Matheson et al. // Host-Directed Therapeutics for Tuberculosis: Can We Harness the Host? // Microbiol. Mol. Biol. Rev. - 2013. – Vol. 77. – P 608-627.

САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КАЧЕСТВА КОНДИТЕРСКИХ ИЗДЕЛИЙ БУФЕТА КОРПУСА №2 «ХГУ ИМ. Н.Ф. КАТАНОВА»

Апальков Д. Г., Кичеева А. И., Курчатова К.Г., Саранчина Ю. В.

Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова, г. Абакан, Россия
dobrynja7024@gmail.com

Ключевые слова: кондитерские изделия, санитарно-гигиеническая безопасность, риск здоровью населения.

SANITARY AND HYGIENIC ASSESSMENT OF THE QUALITY OF CONFECTIONERY BUFFET BUILDING № 2 «KHSU. N. F. KATANOVA»

Apalkov D.G., Kicheeva A.I., Kurchatova K.G., Saranchina Yu. V.

Khakass State University named after N.F. Katanova, Abakan, Russia
dobrynja7024@gmail.com

Key words: confectionery, sanitary and hygienic safety, public health risk.

Введение

Здоровье человека на 50% зависит от его образа жизни и в значительной мере определяется его пищевым статусом. Кондитерские изделия характеризуются высокой калорийностью, содержанием жира, значительным содержанием легкоусвояемых низкомолекулярных углеводов, а потому способны полностью удовлетворять физические потребности в энергии и потребности в пищевых веществах. Особую актуальность приобретает вопрос оценки качества и безопасности кондитерских изделий студенческих столовых и буфетов, ведь большую часть времени студенты проводят в университете и несколько приемов пищи в течение дня приходится на учебное время. Целью исследования является оценка качества кондитерских изделий буфета корпуса №2 «ХГУ им. Н.Ф. Катанова» по микробиологическим

показателям [1, 2, 3].

Материалы и методы

Материалами для исследования являлись наиболее популярные кондитерские изделия буфета «ХГУ им. Н.Ф. Катанова», выявленные методом анкетирования у студентов. В исследовании принимали участие 92 студента (1-4 курс) «ХГУ им. Н.Ф. Катанова» специальности «Лечебное дело». Исследование было проведено в октябре и ноябре 2018 года. Безопасность кондитерских изделий оценивали по следующим показателям: общее микробное число (ОМЧ), наличие и количество санитарно-показательных микроорганизмов (на примере бактерий группы кишечной палочки (БГКП)), наличие патогенных микроорганизмов (сальмонелл) [4]. Определение ОМЧ проводили путем посева материала на питательный агар, определение БГКП оценивали по результатам посева на среду Эндо, патогенные микроорганизмы выявляли на среде Плоскирева. Полученные результаты сравнивали с показателями СанПин 2.3.2.560-96. Для определения ферментативной активности микроорганизмов использовали среды Гисса с лактозой, мальтозой, сахарозой, глюкозой [4, 5, 6]. Все посева инкубировали в течение 2-3 суток при температуре 37°C в термостате. Учет результатов посева производили по культуральным и биохимическим свойствам микроорганизмов на плотных питательных средах. Методом микроскопирования оценивали морфологию и тинкториальные свойства микроорганизмов в фиксированных мазках, окрашенных по Граму [4, 5, 6].

Результаты

По результатам анкетирования выяснено, что большинство респондентов (74 человек – 80,43%) во время учебы предпочитают питаться в буфете. Большинство опрошенных (42 человека - 45,65%) посещают буфет каждый день. 11 человек (11,96%) – едят каждый день кондитерские изделия. 17 (32,7%) опрошенных предпочитают пирожные со сгущенным молоком, 15 (28,85%) - пирожные с кремом, 12 (23,08%) - булочки с творожной, йогуртовой начинкой, 6 (11,53%) - рогалики, кексы без крема, 2 (3,84%) – чизкейки. В связи с этим для санитарно-бактериологического исследования были отобраны образцы с кремом (пирожное «Красный бархат»), со сгущенным молоком (пирожное «Муравейник»), с творожной начинкой (сочень с творогом). Признаки нарушения пищеварения после употребления кондитерских изделий в буфете не наблюдал ни один из респондентов. Качество кондитерских изделий большинство респондентов (29 человек – 55,77%) оценили как хорошее, 15 (28,85%) – удовлетворительное, 8 (15,38%) – отличное.

Во всех образцах кондитерских изделий, отобранных для санитарно-бактериологического анализа, общее микробное число соответствует установленным нормативам. Однако в образцах пирожных «Муравейник» (265 КОЕ/г), «Красный бархат» (265 КОЕ/г) более чем в 60 раз больше КОЕ, чем в образце сочня с творогом (таблица 1).

Таблица 1

Исследуемый продукт	ОМЧ, КОЕ/г	Норматив ОМЧ, КОЕ/г
Пирожное «Муравейник»	280	5×10^4
Пирожное «Красный бархат»	265	5×10^4
Сочень с творогом	4	1×10^4

В образце пробы сочня с творогом были обнаружены только бактерии рода *Staphylococcus*. В

образце пирожного «Красный бархат», кроме этого, видовой состав был представлен такими родами как *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus* и дрожжевые грибки. А в образце пирожного «Муравейник», также, присутствовали все вышеперечисленные рода, а также род *Micrococcus luteus* (таблица 2).

Таблица 2

Исследуемый продукт	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Staphylococcus</i> sp.	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Bacillus</i> sp.	Дрожжи
Пирожное «Муравейник»	+	+	+	+	+	+
Пирожное «Красный бархат»	+	+	+	-	+	+
Сочень с творогом	-	-	+	-	-	-

В качестве санитарно-показательных микроорганизмов рассматривали БГКП. В ходе исследования установили, что пирожное «Муравейник» (24 КОЕ/г БГКП), пирожное «Красный бархат» (36 КОЕ/г БГКП) не соответствуют санитарно-гигиеническому нормативу, а сочень с творогом соответствует (0 КОЕ/г БГКП) (таблица 3). По содержанию патогенных микроорганизмов только сочень с творогом соответствует санитарно-гигиеническому нормативу (0 КОЕ/г), а остальные образцы продуктов санитарно-гигиеническому нормативу не соответствуют (пирожное «Муравейник» - 13 КОЕ/г, пирожное «Красный бархат» - 5 КОЕ/г.) (таблица 4).

Таблица 3

Исследуемый продукт	Количество БГКП, КОЕ/г	Масса продукта (г), в которой не допускаются
Пирожное «Муравейник»	24	0,01
Пирожное «Красный бархат»	36	0,01
Сочень с творогом	0	0,1

Таблица 4

Исследуемый продукт	КОЕ/г (сальмонеллы)	Масса продукта (г), в которой не допускаются
Пирожное «Муравейник»	13	25
Пирожное «Красный бархат»	5	25
Сочень с творогом	0	25

Выводы

По результатам санитарно-бактериологического исследования самых распространенных кондитерских изделий буфета корпуса №2 «ХГУ им. Н.Ф. Катанова» было установлено, что наиболее санитарно безопасным является сочень с творогом. Кондитерские изделия

«Муравейник» и «Красный бархат» превышают санитарно-гигиенические нормативы по наличию колиформных и патогенных бактерий, и представляют опасность для здоровья посетителей буфета. Наличие колиформных и патогенных бактерий на кондитерских изделиях может говорить о несоблюдении работниками буфета правил личной и производственной гигиены [7]. Наличие колиформных бактерий говорит о недавнем фекальном загрязнении, что является серьезным нарушением санитарных норм для работников общественного питания [7]. Устранить сложившуюся ситуацию можно усилением мер контроля за соблюдением правил гигиены в буфете.

Литературы

1. Эрет А.А. Живое питания Арнольда Эрета / А.А. Эрет [пер. с нем. Г.В. Сахалинского]. – М.: Эксмо, 2012. – 256 с.
2. Кузнецова Л.С. Технология и организация производства кондитерских изделий [Текст] / Л.С. Кузнецова, М.Ю. Сиданова - М.: Издательский центр «Академия», 2013.- 480 с.
3. Могильный М.П., Митрофанов П.А. Проблемы и перспективы питания студентов [Текст] / Могильный М.П., Митрофанов П.А. // Успехи современной науки. – 2009. - №6. – С. 6-10.
4. Водолазова С.В. Практикум по микробиологии: учебно-методический комплекс по дисциплине для студентов, обучающихся по специальности «Лечебное дело»/ С.В. Водолазова. – Абакан: Изд-во Хак. Гос. Ун-та им. Н.Ф. Катанова, 2010. – 88 с.
5. Еремина И.А. Микробиология молока и молочных продуктов: Учебное пособие. – Кемерово, 2016. – 80 с.
6. Красникова Л.В., Гунькова П.И. Общая и пищевая микробиология: Учеб.пособие. Часть I. – СПб.: Университет ИТМО, 2016. – 134 с.
7. СанПиН 2.3.6.1079-01 Санитарно-эпидемиологические требования к организациям общественного питания, изготовлению и оборотоспособности в них пищевых продуктов и продовольственного сырья (с изменениями от 3 мая 2007 г.). – Минздрав России. – Москва, 2002.

АНАЛИЗ ПРОФИЛЯ N-ГЛИКАНОВ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ЖИЗНЕННОГО ЦИКЛА ПАРАЗИТИЧЕСКОЙ ТРЕМАТОДЫ OPISTHORCHIS FELINEUS

Беляева С.А.

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск, Россия.

Медицинский центр университета Лейдена, Лейден, Нидерланды.

sonchaaaa@gmail.com

Ключевые слова: *Opisthorchis felineus*, описторхоз, гликаны

IDENTIFICATION OF N-GLYCAN COMPOSITION AT DIFFERENT LIFE STAGES OF OPISTORCHIS FELINEUS

Beliaeva S.A.

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Leiden University Medical Center, Leiden, the Netherlands

sonchaaaa@gmail.com

Key words: *Opisthorchis felineus*, opisthorchiasis, glycans

Введение

Opisthorchis felineus – паразитический червь из класса трематод, семейства *Opisthorchiidae*, эндемичный для западно-сибирского региона (Обь-Иртышский бассейн) и ряда европейских стран (Италия, Германия) [1]. Паразит заселяет желчные протоки печени, вызывая описторхоз. Представители семейства *Opisthorchiidae* являются канцерогенами 1-го порядка (World Health Organization, International Agency for Research on Cancer IARC, 2012), вызывая хроническую воспалительную реакцию, исходом которой являются фиброз и метаплазия эпителия желчных протоков [2]. При паразитозах в установлении взаимодействия паразит-хозяин важную роль играют гликаны. N-гликаны являются продуктом гликозилирования белковых молекул по остаткам аспарагина. Анализ профиля гликанов в клетках паразитических гельминтов может предоставить информацию о молекулярном патогенезе многих паразитозов. Например, в современной литературе представлены данные гликоанализа паразитических червей типа Plathelminthes и Nematodes [3], однако, для большинства червей, в частности, *O. felineus*, данные о структуре гликома отсутствуют. Мы предполагаем, что анализ гликанов *O. felineus* позволит прийти к пониманию фундаментальных молекулярных механизмов взаимодействия паразита с хозяином, что впоследствии может лечь в основу разработки эффективных методов диагностики описторхоза.

Материалы и методы

Работа была выполнена на базе отделения паразитологии Медицинского Центра Университета Лейдена (Лейден, Нидерланды). Материал яиц и взрослых особей *O. felineus* гомогенизировали в присутствии метанола и хлороформа с дополнительной обработкой ультразвуком. Отщепление гликопротеинов было выполнено с помощью инкубации с гранулами сефарозы, сопряженными с трипсином. Выделение N-гликанов проводили с помощью ферментативного расщепления пептид-N-гликозидазой F (PNGase F) в течение 24 часов. Выделенные гликаны были очищены с последующим мечением 2-аминобензойной кислотой (2-aminobenzoic acid, 2-AA). Структурный анализ был проведен с помощью времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-ToFMS) отрицательных ионов в режиме рефлектрона с использованием ДНВ (2,5-дигидроксibenзойная кислота) в качестве матрицы. Спектры, полученные в результате масс-спектрометрии, были проанализированы с помощью программы Glyco Workbench 2.1.

Результаты

Как в клетках взрослых особей, так и в яйцах *O. felineus* преобладают гликаны с олигоманнозилем Man(1-9), соединенным с кóровой структурой Man3GlcNAc2, а также множество усеченных гликанов в модификациях с концевыми GlcNAc(1-2) и Gal(1-2). Встречаются гликаны, монофукозилированные по остаткам GlcNAc (Fucal→6GlcNAc), обеспечивающего соединение с пептидом. Выявлено отсутствие ксилозы и дифукозилированных GlcNAc. В материале яиц гельминта выявлены фосфорилхолин-содержащие структуры, отсутствующие у зрелых особей. На спектре N-связанных гликанов, выделенных из яиц, был зарегистрирован необычный пик со значением m/z=2071.622, ранее не обнаруженный в спектрах гликанов других паразитических трематод. Анализ пика выявил две возможные структуры: Man3Gal2GlcNAc4Fuc1PC1 или Man5GlcNAc3GalNAc1Fuc1PC1.

Для выявления точной композиции молекулы требуется проведение дальнейших исследований с привлечением дополнительных методов анализа.

Обсуждение и выводы. Качественный анализ выявил схожие структуры при сопоставлении профилей зрелых особей и яиц, однако для последних были обнаружены гликаны, содержащие фосфорилхолин, не характерные для зрелых особей. Отсутствие ксилозы и дифукозилированных GlcNAc отличает *O. felilneus* от некоторых других видов паразитических гельминтов (например, некоторых стадий *S. mansoni*). По результатам MALDI-ToF масс-спектрометрии выявлен пик со значением $m/z=2071.622$, что может соответствовать N-гликанам со структурами Man3Gal2GlcNAc4Fuc1PC1 или Man5GlcNAc3GalNAc1Fuc1PC1. Можно сделать предположение, что эта молекула видоспецифична для *O. felineus*, может быть потенциально иммуногенна для человека и играть значительную роль в патогенезе данного вида трематодоза.

Получение яиц и зрелых форм *O. felineus* выполнено при поддержке гранта РФФ № 18-75-00036.

Литература

- Ogorodova LM, Fedorova OS, Sripa B, Mordvinov VA, Katokhin AV, Keiser J, et al. (2015) Opisthorchiasis: An Overlooked Danger. PLoS Negl Trop Dis 9(4): e0003563. doi:10.1371/journal.pntd.0003563.
- Talabnin K., Aoki K. et. al. Stage-specific expression and antigenicity of glycoprotein glycans isolated from the human liver fluke, *Opisthorchis viverrini*. Int J Parasitol. 2013 January ; 43(1): 37–50. doi:10.1016/j.ijpara.2012.10.013.
- С.Н. Hokke, A. van Diepen, Helminth glycomics – glycan repertoires and host-parasite interactions, Mol Biochem Parasitol (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.molbiopara.2016.12.001>

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО СТАТУСА СТУДЕНТОВ С ПРОЯВЛЕНИЯМИ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ

Кеберле С.П., Саранчина Ю.В.

ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», г. Абакан, Россия

keberle97@mail.ru; july.saran4ina2010@yandex.ru.

Ключевые слова: иммунный статус, аллергические заболевания, студенты.

FEATURES OF THE IMMUNE STATUS IN THE STUDENTS WITH MANIFESTATIONS OF ALLERGIC REACTIONS

Keberle S.P., Saranchina Y.V.

«Khakass state University named after N.F. Katanov», Abakan, Russia

keberle97@mail.ru; july.saran4ina2010@yandex.ru

Key words: immune status, allergic diseases, students.

Введение

Аллергия считается болезнью XXI века, ее распространенность увеличивается в экономически развитых странах, как правило, среди молодого населения. Согласно данным ВОЗ, к 2050 г. у большей части населения будут диагностироваться аллергические заболевания (АЗ). На данный момент известно около 20 тыс. аллергенов, и с каждым годом это число увеличивается, что часто затрудняет диагностику и лечение АЗ [2,3,5].

Как правило, аллергии чаще проявляются у детей и подростков, что обусловлено

генетической предрасположенностью, а также влиянием факторов внешней среды. Особого внимания заслуживает выявление и изучение проявлений аллергических заболеваний среди студентов. Так как именно эта группа лиц в наибольшей степени подвергается стрессовым воздействиям в связи с адаптацией к обучению в ВУЗе. Неэффективность защитно-компенсаторных механизмов может стать причиной развития заболеваний у студентов, в том, числе аллергического генеза [3, 5].

Цель исследования: изучить особенности распространенности, проявлений аллергических заболеваний и иммунного статуса у студентов.

Материалы и методы

В данном исследовании принимали участие студенты специальности «Лечебное дело» с 1 по 3 курс в возрасте от 18 до 21 года (средний возраст – 19 лет), из них 27 девушек и 14 юношей. Исследование проходило в два этапа. На первом этапе проводилось анкетирование, по результатам которого все обследуемые были разделены на две группы: основную (студенты с АЗ), контрольную (студенты без АЗ).

Для оценки иммунного статуса был проведен забор венозной крови по общепринятой методике. Все обследуемые дали согласие на проведение исследования, подписав информированное согласие. Подсчет общего количества лейкоцитов (ОКЛ) проводился при помощи гематологического анализатора MindrayBC-3200 (Китай). Относительное число лейкоцитов (ОЧЛ) определяли путем подсчета отдельных популяций лейкоцитов в мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимзе. Микроскопию мазков проводили в иммерсионной системе при увеличении 10x100. Полученные данные использовали для расчета лейкоцитарных индексов: ИА – индекс алергизации; ЛИИр – лейкоцитарный индекс интоксикации; ЯИ – ядерный индекс; ИСЛК – индекс сдвига лейкоцитов крови; ИЛ – лимфоцитарный индекс; ИСНЛ – индекс соотношения между нейтрофилами и лимфоцитами; ИСНМ – индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов; ИСЛМ – индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов [1, 6].

Обработка результатов проводилась с помощью пакетов программ MicrosoftExcel и Statistica. Количественные показатели представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Me (Q1-Q3)). Качественные показатели представлены в виде относительных частот (процентов). Для сравнения двух независимых групп использовали непараметрический критерий Манна-Уитни, Хи – квадрат Пирсона. Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования

На первом этапе исследования по данным анкетирования было выявлено, что у 44% (18/41 чел.) опрошенных наблюдались АЗ, а в 56% случаев регистрировалось их отсутствие. Студенты с АЗ были отнесены в основную группу, а студенты, у которых отсутствовали данные заболевания в группу сравнения. У студентов основной группы также были выявлены наиболее распространенные аллергены. Среди них лидировали пищевые аллергены (35,5%), пыльца растений (17,6%), бытовая химия, лекарственные средства и домашняя пыль (5,8%). Среди проявлений аллергических реакций чаще всего регистрировались поражения кожных покровов (55%) (дерматит, крапивница), риниты и синуситы встречались в 28% случаев, а бронхиальная астма – 22%.

На втором этапе исследования был проведен анализ иммунного статуса студентов на основании показателей лейкоцитарной формулы и индексов (табл. 1).

Таблица 1

Показатели	Контрольная группа (n = 23)	Основная группа (n=18)	Уровень статистической значимости (p)
Общее количество лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	5,9 (4,8 – 6,7)	6,0 (5,5 – 7,1)	0,3
Сегментоядерные нейтрофилы, %	54,0 (48,0 - 57,0)	50,5 (50,0 – 56,0)	0,4
Палочкоядерные нейтрофилы, %	3,0 (2,0 – 5,5)	2,0 (1,0 - 5,0)	0,09
Лимфоциты, %	33,0 (30,0-42,0)	38,5 (34,0-42,0)	0,2
Моноциты, %	5,0 (4,0–6,0)	4,0 (3,0 – 6,0)	0,3

По общему количеству и основным популяциям лейкоцитов по групповым показателям между сравниваемыми группами статистически значимых различий не обнаружено (табл. 1). Однако, при анализе индивидуальных параметров было установлено, что в основной группе относительное содержание лимфоцитов больше нормы наблюдалось у 55,5% студентов, что было статистически значимо выше, чем в группе сравнения (39,1%, $p = 0,017$). Относительное количество эозинофилов в группе с аллергическими реакциями было выше нормы у 16,6% студентов, что не было статистически значимо, выше чем в группе сравнения (8,6%, $p = 0,093$).

При анализе уровня лейкоцитарных индексов по средним групповым показателям в обеих группах статистически значимых изменений не было выявлено (таблица 2). Анализ индивидуальных особенностей показал, что в основной группе отмечалось увеличение уровня индекса алергизации у 83,3% студентов, что статистически значимо было выше, чем в группе сравнения (65,2%, $p=0,004$). Также в группе сравнения есть результаты ниже нормы у 4,3% студентов, что статистически значимо ниже чем в основной группе (0%, $p=0,004$). Статистически значимых различий по индексу ЛИИр между группами не выявлено. В основной группе больше нормы ЛИИр у 22,2 % студентов, в группе сравнения у 30,4% больше нормы ($p= 0,19$). По индексу ЯИ между группами также не выявлено статистически значимых различий. В основной группе индекс ЯИ больше нормы у 88,8 % студентов, в группе сравнения у 91,3% больше нормы ($p=0,63$). В основной группе у большинства обследуемых отмечалось повышение уровня ЛИ (88,8%), что было статически значимо выше, чем в группе сравнения (78,2%, $p= 0,03$). Так же в группе сравнения есть результаты ниже нормы у 4,3% студентов ($p = 0,04$).

Таблица 2

Значение лейкоцитарных индексов у студентов специальности «Лечебное дело»

Показатели	Группа сравнения	Основная группа	Уровень значимости, p
ИА	1,35 (0,85 - 1,75)	1,46 (1,35 – 1,60)	0,28
ЛИИр	1,38(1,00 - 1,70)	1,08(1,04 - 1,50)	0,37
ЯИ	0,15(0,11 - 0,19)	0,12(0,10 - 0,18)	0,15
ЛИ	0,60(0,51 - 0,89)	0,77(0,60 - 0,84)	0,29
ИСЛЭ	10,00 (6,66 - 14,50)	9,95(6,80 - 14,50)	1,00
ИСНЛ	1,75(1,16 - 2,10)	1,32 (1,23 - 1,76)	0,27

В группе с АЗ отмечалось повышение значение уровня индекса ИСЛЭу 50% студентов, в группе сравнения у 43,4% ($p=0,32$). У 33,3% обследуемых с аллергическими заболеваниями показатель индекса ИСЛЭ был ниже нормы, а в контрольной группе данный параметр также был ниже нормы у 26,1% испытуемых. Статистически значимых различий выявлено не было ($p=0,27$). По индексу ИСНЛ между группами так же не выявлено статистически значимых различий. В основной группе обнаружено увеличение индекса ИСНЛ у 11,1% обследуемых,

в контрольной у 17,3% больше нормы данные различия не имели статистической значимости ($p=0,22$).

Обсуждения и выводы

В данном исследовании было выявлено, что 44% испытуемых имели аллергические реакции. Был установлен наиболее распространённый аллерген - пищевые продукты. Студенты с АЗ, чаще жаловались на поражения кожных покровов, основными проявлениями которых являлись крапивница и дерматит. По групповым показателям лейкоцитарной формулы анализу уровня лейкоцитарных индексов статистически значимых различий между группами не обнаружено. При анализе индивидуальных показателей в основной группе отмечалось статистически значимое повышение лимфоцитов и индексов алергизации, лимфоцитарный индекс.

Полученные нами результаты говорят о том, что в период ремиссии аллергических заболеваний различий между обследуемыми с АЗ и контрольной группы нет. А по индивидуальным показателям выявлено, что у студентов с аллергическими реакциями есть сенсibilизация в период ремиссии, которая проявляется в преобладании в крови лимфоцитов.

Литература

1. Даштаянц Г.А. *Клиническая гематология*. Киев: Здоров`я; 1978.
2. Лагутина С.Н., Чижков П.А., Лищик М. В., Макеева А.В. Аллергические реакции как основанная проблема в современной медицине. *Международный студенческий вестник*.2018;4:346-349.
3. Миннибаев Т. Ш., Рапопорт И.К., Чубаровский В.В., Савчук О.А., Тимошенко К. Т., Катенко С. В. Комплексная оценка состояния здоровья студентов по результатам медицинских осмотров. *Группа здоровья. Здоровье населения и среда обитания*.2014;10(259):16-20.
4. Щецова Е. С., Короткова Т.С. Распространенность аллергических заболеваний среди всех возрастных групп населения липецкой области. *Современные проблемы науки и образования*. 2019: 4:10.
5. Эрнзарова Х.Х., Адылов З.У. Распространенность аллергических заболеваний в мире.*International scientific review*.2017; 2 (33): 111-113.
6. Яблчанский Н.И. Индекс сдвига лейкоцитов как маркер реактивности организма при остром воспалении. *Лабораторное дело*. 1983;1:60-61.

САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ПОЧВ ДЕТСКИХ ПЛОЩАДОК

Кичеева А. И., Апальков Д. Г., Ананьевская В. О., Саранчина Ю. В.

Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова, г. Абакан
sukhareva_asya98@mail.ru

Ключевые слова: почва, санитарно-гигиеническая безопасность, риск здоровья населения.

SANITARY AND HYGIENIC ASSESSMENT OF THE SOIL CONDITION OF PLAYGROUNDS

Kicheeva A. I., Apalkov D. G., Ananyevskaya V. O., Yu. V. Saranchina

Khakass state University. N. F. Katanov, Abakan
sukhareva_asya98@mail.ru

Key words: soil, sanitary and hygienic safety, public health risk.

Введение

Острые кишечные инфекции (ОКИ) занимают значительное место в структуре детских инфекционных заболеваний и характеризуются высокой заболеваемостью, частотой случаев

и высокой летальностью [1]. Более того, наблюдается высокая частота среднетяжелых и тяжелых форм ОКИ у детей, вероятность затяжного течения заболевания, формирование постинфекционной патологии желудочно-кишечного тракта [2, 3]. Известно, что ОКИ обусловлены большой группой инфекционных агентов, в структуре которых существенную роль играют энтеробактерии, такие как *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. genes*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, а также виды *Shigella* и *Salmonella*. Одной из сред обитания данных организмов является почва. Контакт с почвой у детей дошкольного возраста происходит регулярно: игры в песочнице являются неотъемлемой частью досуга ребенка [4, 5]. В зарубежной научной литературе есть исследования, подтверждающие роль песка детских площадок в передаче инфекций у детей. Данный факт обуславливает необходимость исследования песка в песочницах как возможного фактора распространения инфекции [6]. В связи с этим, целью данной исследовательской работы являлась оценка микробиологической безопасности детских площадок.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования были выбраны 4 песочницы детских площадок. Исследование проводилось на базе микробиологической лаборатории кафедры фундаментальной медицины и гигиены Медико-психолого-социального института ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова» осенью 2017 года в соответствии с МУ 2.1.7.730-99. «Гигиеническая оценка качества почвы населенных мест. Методические указания».

Отбор почвы производили стерильной металлической лопаткой, на глубине до 10 см, одной объединенной пробой из 5 точек (200-300 г). Общее микробное число (ОМЧ) определяли на среде мясопептонном агаре (МПА). Для учета выбирали чашки, на которых выросло от 50 до 450 колоний. Термофильных бактерий определяли на МПА, взяв 1 пробы в разведении 10^{-2} и 10^{-3} . Подсчитывали количество выросших колоний и пересчитывали на 1 г почвы. Для подсчета аммонифицирующих бактерий 1 мл образца почв в разведениях 10^{-5} и 10^{-7} добавляли в пробирку с 8-10 мл МПБ. Каждое разведение высевали в пятикратной повторности. Две пробирки стерильные – контроль. Число колиформных бактерий (БГКП) определяли методом прямого поверхностного посева 0,5 мл пробы на среду Эндо. Для определения патогенных микроорганизмов проводили прямой поверхностный посев почвенной суспензии на среду Плоскирева. Результат оценивали по наличию характерных для сальмонелл и шигелл колоний. Также проводили посев в столбик со скошенным краем на среду Олькеницкого [7]. Учет результатов проводили по изменению цвета среды и наличию пузырьков газа.

Результаты

Наибольшее общее микробное число обнаружено на площадке 1 ($3,0 \pm 1,0 \times 10^6$ КОЕ/г), что свидетельствует об ее высокой биологической активности и характерно для свежего фекального загрязнения. Количество микроорганизмов на остальных площадках варьировало в пределах $2,0 \times 10^5$ КОЕ/г (таблица 1) [8].

Таблица 1

Общая микробная обсемененность исследуемых образцов почвы

№ п/п	Пробы	ОМЧ в разведениях почвенной суспензии, КОЕ/г	
		10^{-3}	10^{-4}
1	песочница во дворе п. Усть-Абакан	$3,0 \pm 1,0 \times 10^6^*$	$5,8 \pm 0,8 \times 10^5$
2	песочница во дворе п. Усть-Абакан	$6,1 \pm 3,1 \times 10^4$	$1,8 \pm 0,2 \times 10^5$
3	песочница детской площадки Преображенского парка г. Абакан	$6,0 \pm 1,0 \times 10^4$	$1,5 \pm 0,3 \times 10^5$
4	песочница детского сада	$4,2 \pm 0,3 \times 10^4$	$1,1 \pm 0,3 \times 10^5$

Примечания: * Разведение 10^{-6}

В результате оценки качественного состава почвы было обнаружено 8 типов колоний микроорганизмов, которые были представлены грамположительными одиночными кокками, крупными палочками, расположенными одиночно и парами, мелкими палочками с закругленными концами. На основании культуральных и морфологических свойств выделенные микроорганизмы относятся к родам: *Bacillus*, *Micrococcus*, актиномицеты, плесневые грибы. Выявленные микроорганизмы являются резидентными обитателями почвы (таблица 2) [9].

Таблица 2

Качественный состав исследуемых образцов почвы

№ п/п	Типы колоний	КОЕ/г	Морфология бактерий	По Граму
1	Белые с ровными краями	$2,7 \pm 2,5 \times 10^5$	диплобациллы	+
2	Бесцветные с фестончатым краем	$1,1 \pm 5,7 \times 10^5$	мелкие одиночные кокки	+
3	Мелкие желтые с ровными краями	$1,5 \pm 1,2 \times 10^5$	мелкие одиночные кокки	+
4	Мелкие розовые с ровными краями	$1,9 \pm 1,3 \times 10^3$	мелкие одиночные кокки	+
5	Мелкие оранжевые с ровными краями	$1,4 \pm 0,7 \times 10^3$	бациллы	+
6	Коричневые пигментообразующие	$1,9 \pm 1,3 \times 10^3$	одиночные кокки	+
7	Бесцветные неправильной формы	63	бациллы с закругленными краями	+
8	Плесневые грибы	375 ± 20^6	тонкие ветвящиеся нити	+

По наличию санитарно-показательных микроорганизмов норме для детских площадок соответствует только 1 проба. А количество СПМ на остальных площадках превышает норму, что свидетельствует о свежем фекальном их загрязнении (таблица 3).

Таблица 3

Содержание бактерий группы кишечной палочки в исследуемых образцах почвы

№ п/п	Пробы	Индекс БГКП, кл/г	Норма	Категория загрязнения почв
1	Песочница во дворе п. Усть-Абакан	0	0-20	Чистая
2	Песочница во дворе п. Усть-Абакан	1425 ± 145		Чрезвычайно опасная
3	Песочница детской площадки Преображенского парка	1630 ± 520		Опасная
4	Песочница детского сада	465 ± 225		Опасная

Аммонифицирующие бактерии обнаружены на всех площадках, наименьшее количество на 3 площадке, что свидетельствует о загрязнении площадок органическими продуктами [9]. Патогенные микроорганизмы не были обнаружены ни в одной пробе.

Обсуждение и выводы. Выявление в пробах СПМ, свидетельствует о наличии недавнего

фекального загрязнения, что приводит нас к выводу о санитарно неблагоприятном состоянии детских песочниц в городе. Данный факт может быть связан с тем, что в общественных местах песочницы не закрываются и к ним имеют место уличные животные. В свою очередь, такое санитарное состояние городских песочниц несет значительную угрозу здоровью детей дошкольного и младшего школьного возраста, так как правила личной гигиены часто ими не соблюдаются. Это может повлечь за собой учащение случаев инфекционных заболеваний среди лиц данного возраста. Проанализировав полученные данные, можно дать следующие рекомендации для повышения безопасности почвы: ограничить доступ на территорию игровых площадок животным; песочницы в отсутствие детей необходимо закрывать во избежание загрязнения песка (крышками, полимерными пленками или другими защитными приспособлениями; производить регулярную ежегодную смену песка весной.

Литература

1. Лёвин Д. Ю. Клинико-лабораторная характеристика норовирусной инфекции у детей [Текст] / Лёвин Д. Ю., Кадура А. А. Клинико-лабораторная характеристика норовирусной инфекции у детей // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – Общество с ограниченной ответственностью Наука и инновации, 2013. – Т. 3. – №. 2. – С. 187-187.
2. Халиуллина, С.В. Острые инфекционные диареи у детей. Принципы диагностики [Текст] / С.В. Халиуллина, В.А. Анохин, З.Т. Мухамедиева // Практическая медицина. – 2016. – №8. – С. 42-48.
3. Самсонов, А.А. Постинфекционный синдром раздраженной кишки как особая форма функциональной кишечной патологии [Текст] / А.А. Самсонов, Е.Ю. Плотникова, М.В. Борщ // Лечащий врач. – 2012. – №7. – С.: 113-121.
4. Горелов, А.В. Острые кишечные инфекции у детей: отдаленные исходы, факторы их определяющие. Оптимизация путей реабилитации [Текст] / А.В. Горелов, М.С. Григорович. – М.: Изд-во ООО «Веси», 2012. – 206 с
5. Кулиева, З.М. Микрофлора кишечника у детей с неотложными состояниями при острых кишечных инфекциях / З.М. Кулиева, А.И. Гасанов, Л.И. Рустамова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2016. – №2. – С. 76-79.
6. Orden, C. Recreational sandboxes for children and dogs can be a source of epidemic ribotypes of *Clostridium difficile* [Текст] / C. Orden, C. Nelia, J.I. Blanco // Zoonoses Public Health. – 2017. – № 10. – P. 12-20.
7. Лабинская А. С. Общая и санитарная микробиология. Лабинская [Текст] / Лабинская А. С., Волина Е. Г. Общая и санитарная микробиология // Руководство по медицинской микробиологии. – М.: Изд-во БИНОМ. – 2008. – С. 1080.
8. Соколов, Д.М. Методология и показатели санитарно-микробиологического контроля безопасности почвы [Текст] / Д.М. Соколов, С.Н. Соколов, С.Н. Тымчук // Междисциплинарный научный и прикладной журнал «Биосфера». – 2014. – №2. – С. 158-170.
9. Новикова, В.В. Почвенная микробиология [Текст]: монография / В.В. Новикова. – М.: «Колос», 1979. – 316 с.

САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОЗДУХА В ЗАКРЫТЫХ ПОМЕЩЕНИЯХ «ХГУ ИМ. Н.Ф.КАТАНОВА»

Куприянова Д.Н., Корчма Ю.В., Литвиенко М.А., Пронкина, Саранчина Ю. В.

Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова, г. Абакан

hydrargurumhgh@gmail.com

Ключевые слова: воздух помещений, санитарно-гигиеническая безопасность, риск здоровья населения.

SANITARY AND HYGIENIC ASSESSMENT OF AIR QUALITY IN CLOSED ROOMS «KHSU. N. F. KATANOVA»

Kupriyanova D. N., Korchma Yu.V., Litvienko M. A., Pronkina, Saranchina Yu. V.

Khakass State University named after N.F. Katanova, Abakan

hydrargurumhgh@gmail.com

Key words: indoor air, sanitary and hygienic safety, public health risk.

Ведение

Воздух – это одна из главных сред в жизни. Без воздуха не было бы ничего живого на нашей планете. Благодаря газам, находящимся в воздухе, наш организм может получать энергию из окисления питательных веществ. Но помимо газов в нашем воздухе содержатся микроорганизмы. Хоть воздух и является одной из самых стерильных сред, обитающие в нем организмы способны вызывать у человека различного рода инфекционные заболевания. Наибольшее число микроорганизмов находится в воздухе закрытых помещений. Студенты большую часть времени проводят в учебных аудиториях, иногда посещают столовые при институтах. Загрязненный воздух помещений по данным ВОЗ входит в 5 главных факторов, ухудшающих здоровье человека. Исследование микрофлоры воздуха позволяет судить о степени загрязненности окружающей среды, что в свою очередь позволяет разрабатывать методы для эффективно борьбы с загрязнением и профилактики инфекционных заболеваний. [1]

Материалы и методы

Материалом для исследования служил воздух наиболее посещаемых студентами помещений: лекционный зал, кабинет для семинарских занятий, комната самоподготовки студентов, анатомический музей, столовая № 2, гардероб, санузел, коридор, электронный читальный зал в корпусе №2 «ХГУ им. Н.Ф. Катанова»; столовая медицинского колледжа, столовая музыкального колледжа и столовая №1. Исследования проводили в октябре, ноябре 2017 г. и в октябре 2018 г. во время массового посещения помещений студентами и преподавателями. Исследования посевов проводились на базе «ХГУ им Н.Ф.Катанова» в микробиологической лаборатории. Отбор проб воздуха производился в соответствии с МУК 4.2.734-99 «Микробиологический мониторинг производственной среды». Отбор проб воздуха проводили аспирационным методом с помощью аспиратора ПУ-1Б. Питательные среды готовили согласно инструкции производителей. Посев производился на чашки Петри со следующими питательными средами: питательный и кровяной агар [2, 3]. Питательный агар (ПА) – универсальная плотная среда для культивирования широкого спектра микроорганизмов. Для её приготовления согласно прописи в 100 мл дистиллированной воды растворяли 4 г сухой среды, кипятили 1-3 минуты до полного расплавления агара, а затем

стерилизовали в автоклаве при температуре 121С° в течение 15 минут. Далее разливали по стерильным чашкам Петри [2,3]. Кровяной агар (КА) - специальная бактериологическая среда, служащая для выделения бактерий и установления их гемолитической активности. Для приготовления КА к расплавленному и охлажденному до 45°С (не выше) 2% ПА добавляли 5-10% подогретой стерильной крови человека, смешивали и разливали по чашкам Петри [2,3]. Желточно-солевой агар (ЖСА) или среда Чистовича - это элективная среда для стафилококков. Высокое содержание натрия хлорида подавляет большинство бактерий, которые встречаются в ассоциациях со стафилококком, а присутствие яичного желтка выявляет свойственный этому роду фермент лецитиназу. Для изготовления ЖСА к стерильному, расплавленному и охлажденному до 48°С ПА (рН 7,2-7,4) с 7,5-10% натрия хлорида добавляли 15-20% по объему стерильной желточной эмульсии (из хорошо вымытого и обожженного спиртом яйца извлекали желток и разбивали его в 150 - 200 мл стерильного физ. раствора) [2, 3]. Среду быстро перемешивали и разливали в чашки Петри [2, 3]. Для обработки данных использовалась программы Statistica 10.0. и Excel 2010. Для характеристики выборок использовались следующие показатели: среднее арифметическое и ошибка среднего ($M \pm m$) [4].

Результаты исследования

Для оценки санитарно – бактериологического состояния воздуха в исследуемых помещениях проводилось определение таких показателей, как ОМЧ, качественный состав и определение СПМ в образцах воздуха. Согласно данным, воздух всех исследуемых помещениях можно охарактеризовать как «чистый», так как ОМЧ на 1 м³ не превышает 4500 КОЕ/м³ (таблица 1) [2]. Исходя из данных исследования, мы можем сделать вывод, что воздух всех помещений считается «загрязненным», так как общее количество гемолитических стрептококков превышает 124 КОЕ/м (таблица 1) [2]. Доминирующими являлись желтопигментные, белопигментные и оранжевопигментные колонии. Данный морфологический тип колоний морфологически характерные для рода *Staphylococcus*. Складчатые, неправильной формы бактериальные колонии характерны для рода *Sarcina*, класса *Clostridia*. Колонии, имеющие ворсинчатую структуру поверхности и серую пигментацию при микроскопировании характеризовались наличием крупных гиф и большого количества мелких округлых спор, данная картина специфична для плесневых грибов. Округлые бугристые колонии белого цвета принадлежат к роду *Micrococcus*. Амебовидные крупные, имеющие бежевый цвет колонии морфологически характерны для рода *Bacillus* (таблица 2).

Таблица 1.

Определение общего микробного числа микроорганизмов на различных средах

Среда	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ПА	95	925	785	660	820	1835	235	1750	470	330	720	1240
КА	140	900	690	415	735	1495	335	1375	280	300	130	290
ЖСА	140	505	480	340	385	490	105	790	200	90	100	230

1. –лекционная аудитория, 2- семинарская аудитория, 3 – комната самоподготовки, 4 – анатомический музей, 5 – коридор, 6 - гардероб, 7 – электронный читальный зал, 8 – санузел, 9 – столовая мед.колледжа, 10 – столовая корпуса №2, 11 – столовая муз. Колледжа, 12 – столова №1. ПА – питательный агар, КА – кровяной агар, ЖСА – Желтушно-солевой агар Чистовича

Качественный состав микрофлоры воздуха некоторых помещений

Типы колоний	Количество колоний микроорганизмов, КОЕ/м ³					
	1	2	3	4	5	6
1*	150±80	30±20	200±20	465±165	225±125	100±50
2*	55±5	35±30	100±40	175±25	275±25	210±140
3*	0	5±1	10±5	95±15	0	45±5
4*	50±20	0	65±25	80±20	150±50	125±25
5*	0	5±1	45±35	80±0	30±10	40±5
6*	10±5	0	20±5	0	70±20	40±10
7*	5±1	20±10	30±10	30±20	125±75	100±0

Примечание: 1*желтые, круглые с ровными краями, блестящие; 2*светло - желтые круглые, с ровными краями, блестящие; 3*светло - желтые круглые, с бахромчатыми краями; 4* белые, круглые, с ровными краями; 5* белые, круглые, с не ровными краями; 6* молочного цвета, неровные, с волнистыми краями; 7* прозрачные, с волнистыми краями

Выводы

По данным проведенных исследований было выяснено, что показатель общего микробного числа воздуха в учебных аудиториях варьировал от 95±75 до 925±245 КОЕ/м³. По показаниям ОМЧ воздух всех исследованных помещений, можно считать безопасным, т.к. содержание ОМЧ не превышает нормативы [2]. Наибольшее ОМЧ было обнаружено в кабинете для семинарских занятий и аудитории для самоподготовки студентов, что объясняется большим потоком людей и небольшой площадью помещений. При выявлении наличия СПМ в воздухе, было обнаружено, что наибольшее количество колоний гемолитических стрептококков находилось в кабинете для семинарских занятий 900±220 КОЕ/м³, а также в аудитории для самоподготовки студентов 690±120 КОЕ/м³. Показатель общего микробного числа воздуха в учреждениях общественного питания варьировал от 330 до 1240 КОЕ/м³. Микроскопически идентифицированы микроорганизмы отдельных колоний. Наибольшей частотой встречаемости обладают бактерии рода *Staphylococcus*. Колонии золотистого стафилококка во всех помещениях были представлены в минимальном количестве. Позагрязненностью гемолитическими стафилококками исследуемые помещения считаются небезопасными, т.к. во всех помещениях имеется превышение нормативов [2]. Чтобы снизить концентрацию гемолитического стафилококка требуется проводить более тщательную уборку помещений.

Литература

- 1) Кескюль, Л.В. Оценка микрофлоры воздуха учебных помещений [Текст] / Л.В. Кескюль // IV Лужские научные чтения. Современное научное знание: теория и практика. Материалы международной научно-практической конференции. – Санкт-Петербург, 2016. – С. 38-40
- 2) Лабинская, А. С. Руководство по медицинской микробиологии. Общая и санитарная микробиология [Текст] / А. С. Лабинская, Е. Г. Волина. – М.: Издательство БИНОМ, 2008. – 1080 с.
- 3) Водолазова С.В. Практикум по микробиологии: учебно-методический комплекс по дисциплине для студентов, обучающихся по специальности «Лечебное дело»/ С.В. Водолазова. – Абакан: Изд-во Хак. Гос. Ун-та им. Н.Ф. Катанова, 2010. – 88 с.
- 4) Герасимов А. Н. Медицинская статистика; Медицинское информационное агентство – Москва, 2007. – 480 с.

ПРОБЛЕМЫ ВОДОСНАБЖЕНИЯ НАСЕЛЕНИЯ В ТОМСКЕ

Лёгоньякая А.Ю.

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск, Россия

anzhelika_11@mail.ru

Ключевые слова: водоснабжение, органолептическое исследование воды, микробиологическое исследование воды.

WATER SUPPLY PROBLEMS FOR TOMSK CITIZENS

Legon'kaya A. Yu.

Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

anzhelika_11@mail.ru

Key words: water supply, organoleptic investigation of water, microbiological investigation of water.

Введение

Вода является неотъемлемой составляющей всех живых систем. Человек ежедневно употребляет большое количество воды, использует ее для приготовления пищи и мытья посуды, стирки белья, уборки жилья, полива улиц и зеленых насаждений. Ученые заявляют, что воды на Земле более чем достаточно, но в большей степени она непригодна или недоступна для использования.

Согласно докладу Всемирной организации здравоохранения (WHO, 2007), около 1,1 млрд человек не имеют доступа к безопасным источникам водоснабжения, а около 2 млн человек ежегодно умирают от заболеваний, передающихся через питьевую воду. В городах России в результате интенсивного антропогенного воздействия заметно изменился химический состав не только поверхностных, но и подземных вод. Несмотря на относительную высокую защищенность (по сравнению с поверхностными водами) от загрязнения, в них уже обнаруживаются свинец, хром, ртуть, медь, цинк и другие вещества [1].

Материал и методы

Для изучения удовлетворенности населения Томска качеством питьевой воды, а также для выявления привычек потребления воды жителями разных районов города, было проведено исследование. Исследование проходило в рамках опроса в 2019 году. Анкета была создана на платформе google-формы и носила анонимный характер. Данная анкета была распространена в социальных сетях. В опросе приняли участие 400 человек, из них 23,75% представителей мужского пола, 76,25% - женского.

Результаты и обсуждение

В естественных условиях в воде всегда имеется большое количество различных веществ и элементов. Для анализа воды большое значение имеют такие физические показатели, как вкус, цвет, запах. Если же вода содержит слишком большое количество минеральных веществ, это может вызвать расстройство пищеварения, ухудшение аппетита, обострение различных хронических заболеваний. Если вода содержит большое количество фтора, это приводит к истончению зубной эмали и появлению на ней пятен и трещин, деформации и хрупкости костей.

В целом, около 56% процентов жителей Томска и Томской области чаще всего используют в качестве питьевой воды бутилированную воду. 52% употребляют водопроводную воду, но предварительно очищенную. Наибольшей популярностью среди жителей Томска пользуются следующие виды фильтров: «Аквафор», «Барьер», универсальный фильтр BRITA, трехступенчатый гейзер. Обычную воду из-под крана употребляют 12% жителей. Около 35% респондентов используют в качестве питьевой воды кипяченую воду, минеральную – 17%. Сгруппировав ответы по районам, кардинальных отличий выявлено не было.

Исследование показало, что во время занятий спортом и во время прогулок большинство респондентов используют также бутилированную воду - 75%, фильтрованную около 26%, водопроводную - 6%, и около 4% предпочитают не брать с собой воду вовсе.

Одной из задач исследования было изучение удовлетворенности населения качеством водопроводной воды. Было выяснено, что 83% жителей считают, что вода в их районе не является экологически чистой.

Как выяснилось, в большей степени недовольны качеством употребляемой воды жители Советского и Кировского района. Меньшее количество негативных отзывов о качестве воды предоставили жители села Богашево. В Советском районе 100% отметили жесткость воды, большая часть населения отметила отсутствие запаха, присутствие привкуса, редко – присутствие осадка. В Ленинском районе 99% жителей отметили жесткость воды, присутствие запаха, прозрачность и отсутствие вкуса. В Октябрьском районе 98% ответили, что вода жесткая, имеет неприятный запах, безвкусная (некоторые из опрашиваемых отмечали приятный вкус). В Кировском районе 100% ответили, что вода в этом районе жесткая, треть отметили, что вода с неприятным запахом. Также жители отметили следующее: неприятный вкус, белый цвет, помутнение, некоторые отмечали коричневый (ржавый) цвет, привкус металла.

Следует отметить, что 97% опрашиваемых считают, что вода прямым образом оказывает влияние на состояние здоровья. По результатам исследования была выявлена следующая закономерность: 97% людей, проживающих в Томске менее 10 лет, отмечают стягивание и шелушение кожи, жесткость волос, метеоризм, ухудшение состояния зубов, боль в области желудка. Респонденты, живущие в Томске более 10 лет, существенных изменений не наблюдают.

Была проведена качественная оценка водопроводной воды Кировского района. Жесткость воды составила 15,7 dGH, pH-7,44 мг/л, количество кальция - 86,6 мг/л, магния - 16,0 мг/л, натрия - 11,0 мг/л, хлоридов - 9,0 мг/л, сульфатов - < 2,0 мг/л, железа - 0,11 мг/л, марганца - 0,04 мг/л, бора - 0,07 мг/л, цинка- 0,003 мг/л, меди - 0,0022 мг/л, молибдена - меньше 0,01 мг/л, нитратов - 2,5 мг/л, нитритов - 0,004 мг/л. Согласно СанПиН 2.1.4.1074-0,1 были выявлены отклонения от нормы. Так, жесткость воды должна быть в пределах 7-10 мг/л, отношение количества кальция к магнию 1:3-4 (в исследуемой воде - 1:5), количество нитритов до 0,001.

Также было проведено микробиологическое исследование водопроводной воды. Образец был взят из квартиры, расположенной в Кировском районе. Результат испытаний был следующим: общее микробное число (ОМЧ) - 3 КОЕ/мл (при норме не более 50 КОЕ/мл), общие колиморфные бактерии (ОКБ) отсутствуют (в норме не допускаются в 3-х пробах по 100 мл), термотолерантные колиморфные бактерии (ТКБ) – отсутствуют (в норме не допускаются в 3-х пробах по 100 мл), споры сульфитредуцирующих клостридий – отсутствуют, *Pseudomonasaeruginosa*- отсутствует (что соответствует норме).

Выводы

Таким образом, жители Томской области недовольны качеством употребляемой воды. Несмотря на то, что вода в Томске проходит все необходимые этапы очистки, в дома поступает вода, качество которой оставляет желать лучшего. Такие показатели, как pH, магний, кальций, нитриты не соответствуют норме. Согласно проведенному микробиологическому исследованию, качество водопроводной воды соответствует норме. Для улучшения качества водопроводной воды необходима установка оборудования для дополнительной очистки, сохранение водных объектов, а также контроль на всех этапах очистки. Станет ли вода в наших кранах лучше и чище- покажет будущее.

Литература

1. Мотовилова Н.Ю., Волкотруб Л.П. Гигиеническая оценка воды города Томска// Сибирский медицинский журнал: 2012. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/gigienicheskaya-otsenka-pitievoy-vody-goroda-tomska> (дата обращения: 5.09.2019)

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ И МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗНОГО КОМПЛЕКСА В МОДЕЛИ ТРЕХМЕРНОЙ ГРАНУЛЕМЫ INVITRO

Меламуд М. М., Аникина А.У.

ФГАО ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», ИМП В. Зельмана (направление Здравоохранение), Новосибирск, Россия
Marken94@mail.ru

Ключевые слова: туберкулёзная гранулема invitro, мононуклеарные клетки периферической крови, микобактерии туберкулёза, туберкулез-специфические антигены, некроз.

INTERACTION OF IMMUNE SYSTEM CELLS AND MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX IN THREE-DIMENSIONAL MODELS OF GRANULOMA IN VITRO

Melamoud M. M., Anikina A. U.

Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education, «Novosibirsk National Research State University», IMP V. Zelman (Healthcare direction), Novosibirsk, Russia
Marken94@mail.ru

Key words: Tuberculosis granuloma in vitro; periferal blood mononuclear cells; mycobacterium tuberculosis complex; tuberculosis specific antigens; necrosis.

Введение

Гранулематоз является одним из ключевых признаков туберкулезной инфекции [1, 2]. Формирование гранулем происходит в результате сложного иммуноопосредованного взаимодействия клеток человека и патогена. В свою очередь группа микобактерий туберкулезного кластера отличается широким разнообразием, в том числе по степени патогенности для человека, что отражается на особенностях иммунопатогенеза и формирования гранулем [3]. Целью работы явилось изучение особенностей взаимодействия микобактерий разной степени патогенности для человека и мононуклеарных клеток периферической крови человека в оригинальной экспериментальной модели гранулемогенеза in vitro. Кроме того, в этой же модели исследовали влияние туберкулез-специфических антигенов ESAT-6 и SFP-10 на развитие респираторного взрыва и процессы некроза клеток.

Материалы и методы

Трехмерные гранулемоподобные клеточные структуры in vitro формировали с использованием оригинального способа, разработанного в ФГБУ ННИИТ (положительное решение о выдаче патента № 2018129016/14(046637) от 11.07.2019 г.) из мононуклеарных клеток (МНК) периферической крови человека с добавлением микобактерий туберкулезного комплекса (МБТ): *M. bovis*, *M. tuberculosis* H37Rv и *M. tuberculosis* Beijing B0/W148. В качестве трехмерного матрикса использовали плазматический сгусток, сформированный из аутоплазмы. Клетки в фибриновой сети плазматического сгустка сохраняли хорошую подвижность, и уже через 24 часа в лунках формировались трехмерные гранулемоподобные структуры. Визуальную оценку проводили на следующий день и далее ежедневно с использованием инверторного микроскопа. При этом определяли количество и размер граунулем. Активацию макрофагов в грунулемах in vitro и развитие респираторного взрыва оценивали в реакции с нитросиним тетразолом (НСТ). Для оценки реакции клеток в

гранулемах на туберкулез-специфические антигены, в лунки при первой смене среды добавляли ESAT-6 и SFP-10. Некроз клеток в гранулемах оценивали после окраски propidium iodide (PI). Подсчет количества МНК в состоянии некроза осуществляли на лазерном сканирующем конфокальном микроскопе.

Результаты

Среднее количество гранул не зависело от штамма МБТ и составляло в среднем 18-20 на лунку 96-луночного планшета. Но в то же время в ответ на вакцинальный штамм БЦЖ формировались гранулемы большего размера (в среднем 120 мкм), а для H37Rv и Beijing B0/W148 характерны более мелкие гранулемы (70–100 мкм). В ответ на ESAT-6 для BCG отмечено небольшое увеличение общего количества гранул до 23–25 на лунку, а для патогенных штаммов количество гранул уменьшалось, что особенно заметно для Beijing B0/W148 (2–5 на лунку). В ответ на CFP-10 количество гранул не изменялось.

Активацию макрофагов оценивали по накоплению реактивных форм кислорода в реакции с НСТ на 3 сутки. Вакцинальный штамм BCG вызывал наибольшую активацию, примерно в 1,3 раза больше, чем при добавлении патогенных штаммов. Но после добавления ESAT-6 количество активированных макрофагов для BCG и H37Rv практически не изменялось, а W148 в 2 раза подавлял активацию макрофагов и развитие респираторного взрыва. Второй антиген – CFP-10 – равномерно подавлял активацию макрофагов для всех штаммов.

Некроз клеток в составе гранулемы оценивали только при добавлении вакцинального штамма БЦЖ. После окраски PI МНК в состоянии некроза хорошо визуализировались на конфокальной микроскопии. При этом без добавления антигена некротические клетки располагались преимущественно по периферии гранулемы (по расположению, размеру и форме, скорее всего это лимфоциты), их количество составляло 12%. При добавлении антигенов, количество клеток в состоянии некроза резко возрастало и превышало 50%

Обсуждение и выводы

Использование экспериментальной модели гранулемогенеза *in vitro* позволяет проводить исследования многих аспектов иммунопатогенеза туберкулеза, изучать межклеточные взаимодействия, особенности жизнедеятельности патогена внутри клетки, а также взаимодействие «хозяин-патоген» [4,5]. Было показано, что выработка реактивных форм кислорода и, соответственно, активация макрофагов в направлении M1 зависят от степени патогенности МБТ. Beijing B0/W148 вызывал наименьшую активацию макрофагов, что, предположительно приводило к меньшей выработке провоспалительных цитокинов и хемокинов и формированию мелких гранул. В ответ на добавление туберкулез-специфического антигена ESAT-6 активация макрофагов была еще ниже. Известно, что некроз инфицированных клеток является одним из факторов, способствующих прогрессии туберкулезной инфекции. Туберкулез-специфические антигены (как ESAT-6, так и SFP-10) вызывают значительное увеличение количества клеток в состоянии некроза при использовании вакцинального штамма BCG.

Литература

1. S. Bhavanam, G.R. Rayat. Understanding the pathophysiology of the human TB lung granuloma using *in vitro* granuloma models // *Future Microbiol.* (2016) 11(8), 1073–1089.
2. V. Peddireddy, S. N. Doddam. Mycobacterial Dormancy Systems and Host Responses in Tuberculosis // *Front Immunol.* (2017) 8: 84.
3. Anne Lenaerts, Clifton E. Barry III. Heterogeneity in tuberculosis pathology, micro-environments and therapeutic responses. *Immunological Reviews* 2015 Vol. 264: 1–20/
4. B.A. Shammari, T. Shiomi. The Extracellular Matrix Regulates Granuloma Necrosis in Tuberculosis // *Tuberculosis and the Extracellular Matrix • JID* 2015:212, P. 463-473.

5. N. Kapoor, S. Pawar. Human Granuloma In Vitro Model, for TB Dormancy and Resuscitation // Plos one (2013) 8(1) e53657.

ВЛИЯНИЕ МИКОБАКТЕРИЙ РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ПАТОГЕННОСТИ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ ПОЛЯРИЗАЦИЮ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ

Немкова Е.К.^{1,2}

1. *ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет Минобрнауки России, Новосибирск, Россия*

2. *ФГБУ ННИИТ Минздрава России, Новосибирск, Россия*

e.nemkova@g.nsu.ru

Ключевые слова: *Mycobacterium bovis*, *M. tuberculosis*H37Rv, *M. tuberculosis*B0/W148, макрофаги, цитокины, фагоцитоз, киллинг.

MACROPHAGE ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND FUNCTIONAL POLARIZATION AFFECTED BY MYCOBACTERIA WITH DIFFERENT PATHOGENICITY LEVEL

Nemkova E.K.^{1,2}

1. *Novosibirsk State University*

2. *Federal State Budgetary Institution «Novosibirsk TB Research Institute» of the Ministry of Health RF*

e.nemkova@g.nsu.ru

Key words: *Mycobacterium bovis*, *M. tuberculosis* H37Rv, *M. tuberculosis* B0/W148, macrophages, cytokines, phagocytosis, killing.

Введение

Туберкулез – инфекция, вызываемая бактериями *Mycobacterium tuberculosis*, представляет собой одну из основных глобальных нерешенных проблем общественного здравоохранения. Данным возбудителем инфицировано около четверти населения Земли, ежегодно туберкулезом заболевает более 10 млн человек и погибает от него более 1,7 млн. По числу смертей, вызванных инфекционными заболеваниями, туберкулез (ТБ) занимает первое место в мире. Он является основной причиной смерти людей с ВИЧ-инфекцией, часто обусловлен микобактериями с множественной или широкой лекарственной устойчивостью (МЛУ, ШЛУ), требует длительного, плохо переносимого лечения химиопрепаратами, и в случае МЛУ/ШЛУ-ТБ, несмотря на значительные затраты, с трудом и не всегда поддается терапии.

Течение и исход микобактериальной инфекции критически зависят от результата взаимодействия возбудителя с макроорганизмом и способности последнего формировать эффективный иммунный ответ, в первую очередь ответ клеток макрофагальной системы, так как именно макрофаги первые встречаются с патогеном, захватывают последний и служат главным клеточным резервуаром для персистенции и размножения микобактерий. Взаимодействие микобактерий с макрофагами индуцирует функциональную поляризацию клеток преимущественно по M1 или M2 типу, приводит к продукции того или иного спектра

медиаторов и цитокинов, вызывает рекрутирование лимфоцитов и других иммунокомпетентных клеток в очаг инфильтрации и, в конечном счете, определяет характер Т-клеточного иммунного ответа и эффективность элиминации патогена в гранулематозных инфильтратах. Тип функциональной поляризации макрофагов может существенно зависеть от штамма микобактерий. Однако, каким образом влияют на формирование функционального фенотипа макрофагов микобактерии туберкулеза генетического кластера Beijing B0/W148 пока изучено слабо, хотя данный штамм считается очень «успешным»; зародившись относительно недавно на территории Сибири, сегодня он быстро распространяется и циркулирует уже по всей Северной и Центральной Азии и по Европейской части России. При этом он способен очень быстро приобретать лекарственную устойчивость и считается высокопатогенным.

В настоящей работе мы сравнивали влияние штаммов микобактерий разной степени патогенности – вакцинального штамма *Mycobacterium bovis* (наименее патогенного), *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (штамм с промежуточной степенью патогенности) и *Mycobacterium tuberculosis* Beijing B0/W148 (наиболее патогенный) – на формирование функционального фенотипа макрофагов и на способность этих микроорганизмов выживать и размножаться в макрофагах в системе *in vitro*.

Материалы и методы

В работе использовали 3 штамма микобактерий: 1. *Mycobacterium bovis* – вакцинальный штамм BCG производства НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, Ст-Птб.; 2. *M. tuberculosis* H37Rv – стандартный референсный лабораторный штамм микобактерий с умеренной степенью патогенности, чувствительный ко всем противотуберкулезным препаратам 1-го ряда, получен из коллекции штаммов ФГБУ ННИИТ МЗ РФ; 3. *M. tuberculosis* Beijing B0/W148 – штамм с высокой степенью патогенности, получен из коллекции штаммов ФГБУ ННИИТ МЗ РФ. Для инфицирования все штаммы использовались в логарифмической фазе роста.

Использована культура первичных перитонеальных макрофагов, полученных у мышей линии Balb/c методом прилипания к подложке путем элиситирования с помощью 4% альфа-гликана, последующего перитонеального лаважа, определения жизнеспособности методом с трипановым синим, подсчета клеток в камере Горяева, переноса клеток в 24-луночные планшеты Linbro в количестве 1 млн/лунку, дальнейшей их инкубации в среде RPMI 1640 с 5% FCS, 2mM глутамином и смесью антибиотиков в течение 2 ч. при 37°C, 5% CO₂, далее отмывки макрофагов от неприлипших клеток. Полученные монослои инфицировали микобактериями при МОИ 1:1. Культивирование осуществляли в такой же среде в течение 24 ч. после чего инфицированные клетки отмывали от незахваченных бактерий и культивировали далее в течение 4 и 10 сут. После культивирования среду собирали и замораживали для последующего анализа, а монослои фиксировали 1% формалином, окрашивали Аурамином и Родамином и внутриклеточное содержание микобактерий подсчитывали с помощью конфокального микроскопа ZeissLSM-700. По внутриклеточному содержанию бактерий на 1 сут. инкубации судили о поглотительной активности макрофагов по отношению к исследуемым штаммам, а по их содержанию на 5 и 11 сутки инкубации – о способности бактерий и макрофагов, соответственно, выживать/пролиферировать и сдерживать рост/элиминировать патогены.

В культуральной среде содержание ИЛ-10 и ИФН-гамма определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью наборов eBioscience, согласно инструкции

производителя. О функциональной поляризации макрофагов судили по соотношению концентраций ИЛ-10 и ИФН-гамма.

Результаты и обсуждение

О преобладании про- или противовоспалительного фенотипа макрофагов, формирующегося под действием исследуемых штаммов, судили по продукции в них ИФН-гамма и ИЛ-10 и по их соотношению. Было показано, что с возрастанием степени патогенности продукция ИЛ-10 закономерно увеличивается. Это соотношение сохранялось и на 1-х, и на 2-х сутках наблюдения. Поскольку ИЛ-10 – один из ключевых иммуносупрессорных факторов, ингибирующих формирование противотуберкулезного иммунитета, логично думать, что высокая способность Beijing B0/W148 индуцировать продукцию этого цитокина обеспечивает, собственно, патогенность данного штамма. Продукция ИФН-гамма имела более сложную закономерность, но тем не менее, исходная способность Beijing B0/W148 индуцировать этот провоспалительный цитокин с иммуногенными свойствами была значительно снижена. При этом суточная динамика соотношения про- и противовоспалительного цитокинов у оппозитных по патогенности штаммов была прямо противоположна, а штамм H37Rv занимал промежуточное положение. Инкубация макрофагов с микобактериями позволила отследить захват и динамику внутриклеточной репликации/элиминации бактерий. На 1-е сутки после инфицирования определяли фагоцитарную активность макрофагов по отношению к каждому из 3 штаммов. Оказалось, что фагоцитарный индекс, т.е. процентное содержание клеток, поглотивших микобактерии, и фагоцитарное число, т.е. среднее количество бактерий, захваченных одним фагоцитом, мало зависят от патогенности возбудителя. Вероятно, поверхностные свойства исследуемых штаммов относительно близки, и поэтому межштаммовые различия не проявляются. На 5-е и 11-е сутки наблюдения число микобактерий *M. bovis* в макрофагах менялось незначительно. Это по-видимому означает, что в течение времени наблюдения микобактерии вакцинального штамма успешно персистировали в макрофагах, не размножаясь и не подвергаясь гибели, либо внутриклеточная репликация и элиминация бактерий находились в равновесии.

В отличие от микобактерий *M. bovis*, популяция микобактерий *M. tuberculosis* H37Rv, содержащихся в макрофагах, в течение 5 суток увеличилась в 2 раза, но затем их численность уменьшалась и к 11 суткам становилась меньше, чем число исходно захваченных микроорганизмов. Очевидно, на ранних сроках инкубации (5 сут) баланс роста и гибели *M. tuberculosis* H37Rv смещен в пользу микобактерий, но далее механизмы интрамакрофагального киллинга начинают преобладать.

Микобактерии туберкулеза штамма Beijing B0/W148 активно пролиферировали, так, что на 5 сутки культивирования их количество в макрофагах возросло примерно в 3,5 раза. К 11 суткам количество бацилл несколько уменьшалось, но по-прежнему оставалось в 1,7-2 раза выше, чем при захвате патогена (т.е. на 1-е сутки инкубации).

Следовательно, судьба захваченных микобактерий в макрофагах зависит от штамма возбудителя. Подсчеты показывают, что максимальной выживаемостью и способностью размножаться внутри макрофагов обладает наиболее патогенный штамм, а минимальной способностью – наименее патогенный.

Выводы

Итак, выживаемость, гибель или размножение микобактерий коррелирует с их патогенностью точно так же, как и их способность генерировать иммуносупрессивный

цитокин ИЛ-10. Логично думать, что обе способности вносят вклад в патогенность исследуемых штаммов.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОМИКРОБНОГО ЭФФЕКТА ПЬЕЗОЭЛЕКТРИЧЕСТВА, ГЕНЕРИРУЕМОГО ПОЛИМЕРНЫМИ СКЭФФОЛДАМИ

Сапожникова А. С.

Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск, Россия
ass108@tpu.ru

Ключевые слова: скэффолды, пьезоэлектричество, *E.coli*, антибактериальная активность, противомикробный эффект.

RESEARCH OF ANTI-MICROBIAL EFFECT OF PIEZOELECTRICITY GENERATED BY POLYMERIC SCAFFOLDS

Sapozhnikova A.S.

National Research Tomsk Polytechnic University, Russia, Tomsk
ass108@tpu.ru

Key words: scaffolds, piezoelectricity, *E. coli*, antibacterial activity, antimicrobial effect.

Введение

Японскими учёными была доказана способность материала на основе полимолочной кислоты (ПМК) проявлять антибактериальную активность по отношению к *Staphylococcus aureus*. Они предположили, что пьезоэлектрическая ткань ПМК проявляет такие свойства из-за возникновения сильного электрического поля. Антибактериальные свойства были бы предпочтительны для многих предметов одежды, таких как носки, обувь, нижнее белье и защитные средства, используемые в спорте, а также для медицинских тканей и текстиля.

S. aureus является хорошо известным патогеном, поэтому борьба с ним является насущной проблемой [1].

На данный момент существуют теоретически обоснованные и практически доказанные механизмы инактивации бактериальных культур: электропорация и образование активных форм кислорода.

Электропорация

Есть много сообщений, показывающих, что импульс высокого напряжения вызывает бактерицидную активность. Когда сильное электрическое поле применяется к бактериям снаружи, между концами клеточной мембраны возникает разность электрических потенциалов. В некоторых местах мембраны появляется нестабильность, что приводит к образованию пор, через которые вытекает бактериальное содержимое. Этот процесс называется электропорацией. Разница электрических потенциалов, необходимая для электропорации, должна быть не менее 1 В для каждой бактерии, независимо от типа и размера клетки [2]. Размер бактериальной клетки составляет около 1 мкм, и, таким образом, чтобы убить бактериальную клетку, требуется электрическое поле напряжением не менее 1 МВ·м⁻¹ [3]. Электропорация может быть одним из механизмов, управляющих антибактериальным эффектом пьезоэлектрической ткани через переменное и сильное

электрическое поле [1].

Активные формы кислорода

В организме в результате окислительно-восстановительных реакций постоянно происходит генерация активных форм кислорода (АФК). Супероксид-анион – является одним из наиболее широко распространённых в организме свободных радикалов. Он образуется в клетках болезнетворных бактерий и является повреждающим фактором для клеточных мембран паренхиматозных органов человеческого организма. Для лейкоцитов и макрофагов супероксид-анион является фактором бактерицидности, с помощью которого клетки инактивируют патогенные микроорганизмы. Кислородные радикалы обладают высокой реакционной способностью и легко вступают в химические реакции с органическими молекулами для приобретения недостающего электрона. Кислородные радикалы оказывают воздействие на различные структурные компоненты клеток: ДНК (повреждение азотистых оснований); белки (окисление аминокислотных остатков, образование ковалентных "сшивков"); липиды; мембранные структуры [4].

Наличие свободного кислородного радикала было доказано в работе FengJ. et al. [5]. Таким образом, возникновение антибактериального эффекта может быть обусловлено образованием на поверхности материала активных форм кислорода, которые генерируются электрическим полем.

На данный момент вопрос влияния пьезоэлектричества на микроорганизмы остаётся открытым. Исследования, подобные нашему, ранее не проводились.

Целью данной работы являлось изучение воздействия пьезоэлектричества полимеров на бактериальную культуру.

Материалы и методы

Для проведения эксперимента методом электроформования были получены образцы нетканых скэффолдов из непьезоэлектрика – поликапролактона (ПКЛ) и пьезоэлектрика – полигидроксibuтирата (ПГБ). Оба полимера являются биоразлагаемыми и биосовместимыми и показывают хорошие результаты в качестве платформы для восстановления повреждённых тканей и органов человека.

Исследование антибактериальной активности скэффолдов проводилось методом посева на плотную питательную среду. Для проведения эксперимента готовились 3 пробирки: в первую помещали образец скэффолда из ПКЛ, во вторую – из ПГБ и третья пробирка была «контролем» без образцов. В каждую пробирку вносили объём физиологического раствора и бактериальную суспензию суточной культуры *E. coli*.

Для активации пьезоэффекта пробирки подвергали воздействию ультразвуком. Через серию разведений производили посев суспензии на плотную питательную среду (ППС) для 0, 5, 10 и 30 минутных точек. После чего чашки Петри с посевами помещали в термостат, где поддерживалась температура 37°C. Подсчёт колоний проводили через 18 часов термостатирования.

Результаты. Количество бактерий в зависимости от времени представлено на рисунке 1. Данные получены методом подсчёта колоний на ППС.

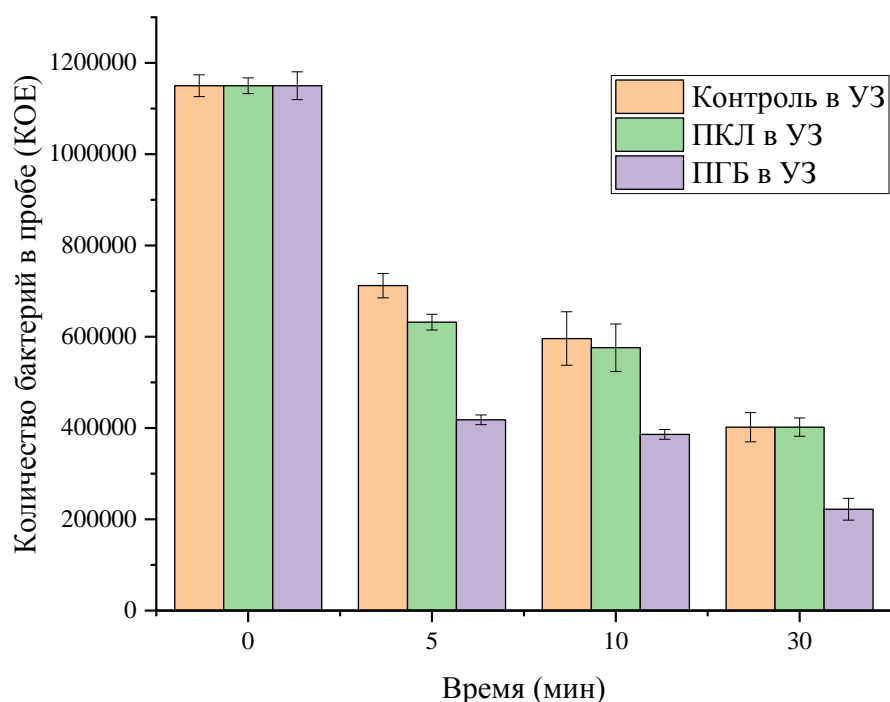


Рис. 1. Количество бактерий в анализируемых пробах с образцами

Обсуждение и выводы

Анализ полученных результатов показал, что разница между «контролем» и пробой с образцом из полигидроксибутирата после 30 минут воздействия ультразвуком составляет порядка 200 тысяч КОЕ при пересчёте на первоначальный объём среды в пробирках. Данное явление позволяет сделать вывод, что генерируемое полимерами пьезоэлектричество подавляет рост микроорганизмов.

Литература

1. Ando M. et al. Piezoelectric antibacterial fabric comprised of poly (lactic acid) yarn //Japanese Journal of Applied Physics. – 2017. – Т. 56. – №. 10S. – С. 10PG01.
2. Imai T. et al. Ohmic heating of Japanese white radish *Rhaphanus sativus* L //International journal of food science & technology. – 1995. – Т. 30. – №. 4. – С. 461-472.
3. Castro A. J., BARBOSA CÁNOVAS G. V., Swanson B. G. Microbial inactivation of foods by pulsed electric fields //Journal of Food Processing and Preservation. – 1993. – Т. 17. – №. 1. – С. 47-73.
4. Лелевич В. В., Леднёва И. О., Петушок Н. Э. Биологическая химия //пособие для студентов лечебного и педиатрического факультетов/ВВ Лелевич.–Гродно: ГрГМУ. – 2009.
5. Feng J. et al. Significant Improvement and Mechanism of Ultrasonic Inactivation to *Escherichia coli* with Piezoelectric Effect of Hydrothermally Synthesized t-BaTiO₃ //ACS Sustainable Chemistry & Engineering. – 2018. – Т. 6. – №. 5. – С. 6032-6041.

ФАКТОРЫ РИСКА И КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ РЕЦИДИВИРУЮЩЕЙ РОЖИ

Туремуратова Ф.Б.

ФГОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск, Россия

fari98turemuratova@gmail.com

Ключевые слова: рожа, клинические формы, рецидив, факторы риска.

RISK FACTORS AND CLINICAL MANIFESTATIONS OF RECURRENT ERYSIPELAS

Turemuratova F.B.

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

fari98turemuratova@gmail.com

Keywords: erysipelas, clinical forms, relapse, risk factors.

Введение

Рожа является инфекцией поверхностного слоя кожи, что отличает это заболевание от целлюлита и некротического фасциита, которые вовлекают в патологический процесс подкожную клетчатку. Согласно данным литературы, общая заболеваемость рожей в Российской Федерации составляет от 7,2 до 22,0 случаев на 10000 населения. Рожа клинически проявляется острым началом с системными симптомами, включающими лихорадку, озноб и недомогание, а также появлением местных признаков воспаления, таких как эритема, боль и отек, четко разграниченных от окружающих тканей. Самым распространенным неблагоприятным исходом рожи является рецидив, который возникает в 12-29% случаев. Известны различные факторы риска рожи, в том числе нарушение целостности кожного барьера, венозная недостаточность, лимфедема, радикальная мастэктомия, сахарный диабет и избыточный вес. Вместе с тем, факторы риска рецидива рожи определены менее четко.

Цель исследования: выявить факторы риска рецидивирующей рожи.

Материал и методы

Ретроспективно проанализированы истории болезни 40 больных, в том числе 26 больных, имеющих единичный эпизод первичной формы (ПФ) рожи и 14 больных рецидивирующей формой (РФ) рожи, госпитализированных в стационары г. Томска в период 2016-2017 гг. Эти две группы больных сравнили в отношении эпидемиологических, клинических, лабораторных и инструментальных параметров. Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0. Для определения статистической значимости различий количественных переменных применяли непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Различия качественных данных между группами проанализированы с помощью показателя отношения шансов (ОШ) и критерия значимости гипотезы «хи-квадрат» с поправкой Йейтса.

Результаты

Эритематозная форма рожи была диагностирована у 69,2 % больных с ПФ и у 85,7 % пациентов с РФ рожи. У остальных больных из групп РФ и ПФ были зарегистрированы случаи эритематозно-буллезной, эритематозно-геморрагической и буллезно-геморрагической форм болезни. Установлено, что средний возраст больных РФ был достоверно выше, по сравнению с группой ПФ (67,1 [63,6; 69,3] vs 56,4 [39,7; 65,5, P=0,0052]. Фактором риска РФ был возраст старше 67 лет (ОШ=5,5 (1,23–24,50), $\chi^2=5,47, P=0,019$). У больных РФ рожи преобладала локализация местных проявлений на нижних и верхних

конечностях над вовлечением в процесс лица и/или головы (ОШ=5,1 (0,95–27,70), $\chi^2=4,06$, $P=0,044$). Из фоновых заболеваний статически значимые отличия между группами ПФ и РФ были установлены в отношении хронической венозной недостаточности (и варикозной болезни вен нижних конечностей), а также для сердечно-сосудистых заболеваний, включавших гипертоническую болезнь 2 и 3 степени и ишемическую болезнь сердца (ОШ=5,5 (1,23–24,50), $\chi^2=5,47$, $P=0,019$).

Выводы

Установлено, что факторами риска рецидивирующей рожи были возраст больного старше 67 лет, локализация местных проявлений на нижних и/или верхних конечностях, наличие таких фоновых заболеваний как хроническая венозная недостаточность, варикозная болезнь вен, гипертоническая болезнь и ишемическая болезнь сердца.

МИКРОФЛОРА СЛИЗИСТОЙ ЗЕВА МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ МНОГОПРОФИЛЬНОГО СТАЦИОНАРА

Уткина Е. В., Отдушкина Л.Ю.

ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава

Российской Федерации, Кемерово, Россия

Goll1997.2011@mail.ru

Ключевые слова: микрофлора слизистой зева, микробиоценоз, дисбиоз.

MICROFLORA OF THE PHARYNX MUCOSA OF MEDICAL WORKERS OF A MULTIDISCIPLINARY HOSPITAL

Utkina E.V., Otdushkina L.Yu.

Kemerovo State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kemerovo, Russia

Goll1997.2011@mail.ru

Key words: microflora of the pharyngeal mucosa, microbiocenosis, dysbiosis.

Введение

Состав микробиоценозов различных биотопов человеческого организма зависит от большого числа факторов окружающей среды [1, 2]. Медицинские работники, в силу своей профессиональной деятельности, пребывают в относительно закрытой, искусственно созданной экологической системе, которая отличается высокой степенью активности биологических, химических, физических и других воздействий [3]. В связи с этим комплексное влияние неблагоприятных профессиональных факторов, действующих только в условиях госпитальной среды, может сказываться на микробиоценозах открытых полостей и на состоянии здоровья в целом.

Цель исследования: оценка состояния микробиоценозов медицинского персонала многопрофильного стационара.

Материалы и методы

Проведено бактериологическое исследование мазков из зева 134 средних медицинских работников многопрофильного стационара г. Кемерово. Группу сравнения составили 132 человека, не имеющих медицинскую профессию, того же возраста и пола, что и основная группа. Отделяемое из зева брали сухим, стерильным, одноразовым тампоном (СОРАН,

Италия) утром, натощак. Доставку осуществляли в течение 2 часов. Посевы проводили количественно на следующие питательные среды: 3% кровяной МПА (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), желточно-солевой агар, среда Эндо (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), среда Сабуро (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск). Идентификацию микроорганизмов проводили по биохимическим свойствам с использованием коммерческих тест-систем: STAPHYtest 16 (Lachema diagnostica s.r.o, Чехия), STREPTOtest 16 (Lachema diagnostica s.r.o, Чехия), ENTEROtest 24 (Lachema diagnostica s.r.o, Чехия), AUXOCOLOR (BioRad, Франция). Показатели постоянства микробных видов в ротоглоточном микробиоценозе С (%) определяли по формуле Р. Дажо (1975) Ю. Одум (1986). Оценку достоверности различий данных проводили с помощью непараметрических методов статистики.

Результаты и обсуждение

Общее содержание микроорганизмов в отделяемом ротоглотки как у медицинского персонала, так и в группе сравнения составило 3,68 lg КОЕ/мл. Анализ структуры выделенных культур показал, что среди микроорганизмов ротоглоточного биотопа у всех обследуемых доминируют представители рода *Staphylococcus*. На их долю у медицинских сотрудников приходилось 50,7% всех изолятов, второе место в бактериальной структуре занимали бактерии рода *Streptococcus* (24%). Доля типичных кишечных палочек, энтерококков, дрожжеподобных грибов *Candidaalbicans* составила 10,7%, 6,7% и 4% соответственно. В контрольной группе структура микробиоценоза зева не отличалась ($p=0,05$).

Анализ частоты обнаружения микроорганизмов из зева показал, что у медицинских работников отмечался дефицит негемолитических стрептококков. Частота колонизации стрептококками не превышала 43,7%, а количественный уровень был снижен до 4,5 (4,0; 4,8) lg КОЕ/мл. У лиц, не относящихся к медицинским профессиям, данные микроорганизмы были обнаружены в 56,4% случаев, со средним количественным содержанием 5,2 (4,8; 5,4) lg КОЕ/мл соответственно. Постоянными бактериями тонзиллярного микробиоценоза у медицинского персонала были эпидермальные стафилококки, частота колонизации которыми достигала 58,4%, при среднем содержании в 1 мл секрета 4,4 (3,9; 4,7) lg. В контрольной группе данные микроорганизмы были отнесены к добавочной микрофлоре, так как встречались в 1,5 раза реже (38,2%) и с более низким уровнем, составившим 3,6 (3,2; 3,8) lg КОЕ/мл. Установлены статистически значимые различия в частоте колонизации слизистой зева кокковой микрофлорой с агрессивными свойствами. У медицинских работников достоверно чаще, чем у лиц контрольной группы в зеве вегетировали *Staphylococcus haemolyticus* (14,8% против 8,7%, $p=0,05$), также выше была частота колонизации β -гемолитическими стрептококками (18,2% против 8,1%, $p=0,01$). Плотность колонизации слизистой зева данными микроорганизмами в сравниваемых группах не отличалась. Также не выявлено различий в частоте обнаружения *S.aureus* (10,5% и 9,7% соответственно, $p=0,06$). Отмечена колонизация зева у медицинского персонала, нетипичной для данного биотопа микрофлорой: лактозонегативными эшерихиями и фекальными энтерококками. Они вегетировали в составе микробиоценоза зева персонала в 29,8% и 26,3% случаев, что позволило отнести их к добавочной микрофлоре. Частота обнаружения данных микроорганизмов у лиц контрольной группы не превышала 13,4% и 12,9%, соответственно, т.е. в составе тонзиллярного микробиоценоза они были случайными представителями.

Высокие показатели колонизации слизистой зева у медицинских сотрудников условно-патогенными и нетипичными для тонзиллярного биотопа микроорганизмами, связаны с

пребыванием их в госпитальной среде, о чем свидетельствуют величины относительных рисков. Риски колонизации зева β -гемолитическими стрептококками при работе в условиях госпитальной среды составили $RR=2,3$ [95% ДИ 1,1-2,8], *Escherichiacoli* $RR=2,3$ [95% ДИ 1,4-2,5], *Enterococcusfaecalis* $RR=2$ раза [95% ДИ 1,3-2,3]. Значения RR для *S. haemolyticus* и *S. epidermidis* составили 1,7 [95% ДИ 1,2-1,9] и 1,5 [95% ДИ 1,3-1,6].

Выводы

1. У медицинских сотрудников регистрируются дисбиотические нарушения микрофлоры слизистой зева, которые характеризуются снижением уровней колонизации негемолитическими стрептококками и ростом содержания условно-патогенных микроорганизмов.
2. Величины относительных рисков свидетельствуют, что колонизация зева медицинских сотрудников связана с флорой, с потенциальными признаками патогенности, взаимосвязана с профессиональной деятельностью, т.е. с пребыванием в госпитальной среде.

Литература

1. Ивашкин, В.Т., Ивашкин К. В. Микробиом человека в приложении к клинической практике. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2017;6 (27):4–13.
2. Салгина, А.В., Рахматуллина О. И., Перунова Н. Б. Характеристика персистентного потенциала облигатно-анаэробных бактерий при эубиозе и дисбиозе. //Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2016;5(61):167–169.
3. Петрова, А.А. Инфекционная безопасность медицинского персонала в современном многопрофильном стационаре. // Вестник Российской военно-медицинской академии. 2008; (12):517.

АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЙ И ПРОТИВОГРИБКОВЫЙ СПЕКТР ДЕЙСТВИЯ ПИОЦИАНИНА

Хан Е.А., Чубик М.В.

Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск, Россия
elenal@tpu.ru

Ключевые слова: пиоцианин, антибиотики, *Pseudomonas aeruginosa*.

ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL SPECTRUM OF PYOCYANIN ACTION

Khan E.A., Chubik M.V.

National research Tomsk polytechnic university, Tomsk, Russia
elenal@tpu.ru

Keywords: pyocyanin, antibiotics, *Pseudomonas aeruginosa*.

Введение

Потребность в поиске новых антибиотиков возрастает с каждым годом из-за увеличивающейся резистентной способности бактерий к существующим антибиотикам. Простым методом оценки количества вещества, необходимого для подавления роста микроорганизмов, является метод серийных разведений. Доказано, что вырабатываемые

Pseudomonas aeruginosa вторичные метаболиты феназинового ряда проявляют противогрибковые, инсектицидные, противоопухолевые, противораковые, противомаларийные и противопаразитарные свойства [1].

Материалы и методы

Для выделения вторичного метаболита сначала культивировали бактерию *Ps. aeruginosa* в оптимальных для жизнедеятельности условиях. ГРМ-бульон с культурой в течение 5 дней в термостате при 37 °С изменял цвет с желтого на темно-зеленый. Экстракция пиоцианина проводилась с использованием растворителя хлороформа, после чего хлороформ был удален и заменен на воду для предотвращения токсичного действия на микроорганизмы. Исследовали вещество с помощью тонкослойной хроматографии, высокоэффективной хроматографии и спектрофотометра. Концентрация пиоцианина была определена по формуле Бугера-Ламберта-Бера (1) при длине волны 690 нм:

$$C = M \times \frac{D}{\varepsilon \times l} \quad (1)$$

где С – концентрация вещества в растворе, мг/мл;

D – оптическая плотность поглощающего вещества;

M – молярная масса, (210 г/моль);

ε – молярный коэффициент поглощения (для пиоцианина $\varepsilon=3400 \text{ моль}^{-1} \cdot \text{л} \cdot \text{см}^{-1}$);

l – длина оптического пути.

Метод серийных разведений оценивает концентрацию жизнеспособных клеток в образце на основе постепенного разведения антибиотика в серии реплицированных жидких субкультур (например, пробирок) [2]. Предполагаемые минимальные концентрации необходимые для подавления роста некоторых микроорганизмов, таких как *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* и *Aspergillus niger*, были получены из данных литературы [3]. Для получения инокулюма готовили суточную микробную взвесь в физиологическом растворе, которая была эквивалентна 0,5 по стандарту мутности МакФарланда. Концентрация микроорганизмов составила примерно 10^6 КОЕ/мл.

Результаты

Для снятия результатов из экспериментальных пробирок после суток культивирования был произведен посев на чашки Петри с ГРМ-агаром. По количеству образовавшихся колоний определяли минимальную подавляющую концентрацию пиоцианина по отношению к микроорганизмам (таблица).

Таблица

	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Aspergillus niger</i>
МПК _{теор.} , МКГ/МЛ	17,8	14,5	6,0	64
МПК _{экспер.} , МКГ/МЛ	17,8 ± 1,6	29 ± 1,5	-	128,0

При концентрации пиоцианина 157,5 мкг/мл, что в 26 раз больше минимальной подавляющей концентрации по данным литературы [3], не было отмечено значительного уменьшения роста бактерий *St. aureus* по сравнению с культурой без пиоцианина. Разница между данным литературы МПК для *Bacillus cereus*, *Aspergillus niger*, а также *St. aureus* могут возникать из-за мутирования микроорганизмов [4].

Выводы

Пиоцианин, выделенный из грамположительной бактерии *Pseudomonasaeruginosa*, ингибирует рост бактерий и микроскопических грибов, прерывая активный метаболический транспорт в бактериальных клетках посредством взаимодействия с дыхательной цепью. Он при поглощении электрона производит относительно стабильный анионный радикал и легко подвергается окислительно-восстановительному циклу, который отвечает за его антагонистическое действие [5]. Таким образом, пиоцианин может быть использован в качестве терапевтического средства в медицине.

Литература

1. Смирнов В.В. Бактерии рода *Pseudomonas* // Смирнов В.В., Киприанова Е.А. – Киев: Наукова думка, 1990. – 264 с.
2. Ben-David A., Davidson C.E. Estimation method for serial dilution experiments // *Journal of Microbiological Methods*. – 2014. – Volume 107. – Pages 214-221.
3. Воробьева Л.И. – Промышленная микробиология. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 284 с.
4. Noto M.J., Burns W.J., Beavers W.N., Skaar E.P. 2017. Mechanisms of pyocyanin toxicity and genetic determinants of resistance in *Staphylococcus aureus* // *J Bacteriol.* – 2017. – Vol.5 – P. 199.
5. Cheluvappa R. Standardized chemical synthesis of *Pseudomonas aeruginosa* pyocyanin // *MethodsX*. – 2014. – Vol. 1 – P. 67-73.

ПРОБЛЕМЫ И АКТУАЛЬНЫЕ РЕШЕНИЯ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СУБСТАНЦИЙ НА ПРИМЕРЕ ПИОЦИАНИНА

Хохлова И. Ю.

Национальный исследовательский Томский политехнический университет ТПУ, Томск, Россия.

Xoxlova.iu@gmail.com

Ключевые слова: антибиотики, пиоцианин, микробиологический синтез, условия культивирования, питательная среда.

PROBLEMS AND TOPICAL SOLUTIONS FOR THE DEVELOPMENT OF NEW ANTIBACTERIAL SUBSTANCES USING THE EXAMPLE OF PYOCYANIN

Khokhlova I. Yu.

National Research Tomsk Polytechnic University, TPU, Tomsk, Russian Federation

Xoxlova.iu@gmail.com

Key words: antibiotics, pyocyanin, microbiological synthesis, cultivation conditions, culture medium.

Инфекционные и раковые заболевания входят в топ причин человеческой смертности [1]. Поэтому разработка новых, эффективных и безопасных лекарственных субстанций в этой области остается актуальной проблемой. Одним из известных, но неиспользованных антибиотиков является пиоцианин. На данном этапе разработки была предложена оптимизированная технология культивирования продуцента для наибольшего выхода продукта. В работе подбирали условия культивирования и оптимальный состав питательных сред. Кроме проблемы антибиотикорезистентности, широко обсуждаемой в последние десятилетия, сейчас встает вопрос окупаемости разработки новых антибиотиков. Многие компании отказываются от этих идей, т.к. считают их не рентабельными. Разработка

антибактериальных препаратов с нуля может занять больше 10 лет. Патент защищает технологию от 10 до 20 лет, но никто не гарантирует, что бактерии не приобретут к нему устойчивость, и препарат будет актуальным долгое время.

Тем не менее, пока не изобретены и не поставлены на поток другие методы борьбы с патогенными бактериями, человечество нуждается в разработке антибактериальных субстанций.

Мы обратили свое внимание на давно известный антибиотик, не нашедший себе широкого применения – пиоцианин.

Он доказано имеет антимикробную, противопрозоюную, антигрибковую и противоопухолевую активность [2, 3].

Одной из проблем широкого внедрения можно считать отсутствие подходящей методики получения пиоцианина с хорошими выходами. Это сделало бы вещество доступным для исследования. Мы рассматриваем в своей работе микробиологический синтез, т.к. химический синтез является токсичным и трудно осуществимым, не гарантирует должной чистоты продукта или требует дополнительных стадий очистки, что делает производство трудоемким и дорогим.

Для исследования и получения пиоцианина был выбран штамм синегнойной палочки *Pseudomonas aeruginosa*, склонный к продукции пиоцианина. Продуцент хранили в термостате при 37°C на скошенной среде ГРМ№9 для получения пигмента пиоцианина.

Методы для увеличения продукции пиоцианина можно разделить на: физические, биохимические и генетические. Физические включают в себя варьирование условий культивирования: температуры, освещения, аэрации питательной среды. К биохимическим методам можно отнести изучения биосинтеза соединения и точки влияния на продукцию пиоцианина путем внесения специальных добавок. К генетическим методам относятся методы генной инженерии.

В работе были опробованы физические и биохимические методы воздействия. Физические методы влияния на биосинтез пиоцианина включали в себя изменение освещения, аэрации и температуры.

Была проведена работа по подбору питательной среды на увеличение выхода пиоцианина. Последовательно изучали изменение источника углерода (глицерин, гидролизат рыбной муки) в питательной среде, влияние различных аминокислот (метионин, валин, аланин, лейцин, глицин) в качестве источника азота для биосинтеза пиоцианина, а так же изучали влияние различных неорганических солей ($MgSO_4$, $FeSO_4$, $CaCO_3$, KH_2PO_4 , NH_4Cl). Они считаются кофакторами биосинтеза на некоторых стадиях [4].

На данном этапе исследования наилучшие результаты по количеству продуцируемого пиоцианина продуцент показал при условиях комнатной температуры и освещении, возможно, УФ-излучение является дополнительным стимулом для образования пиоцианина. Удалось увеличить выходы пиоцианина с 0,020 мкг/мл до 0,045 мкг/мл по сравнению со стандартными условиями культивирования в термостате при 37°C без освещения. Среди составив сред наибольший выход получили при комбинации Глицерин+ K_2HPO_4 + $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + $FeSO_4$ +Ala+Leu. Максимальный выход пиоцианина составил 0,126 мкг/мл.

Литература

1. Электронный ресурс, дата обращения 21.10.2019 <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.
2. Wa'ad M. R., In Vitro Study of the Swarming Phenomena and Antimicrobial Activity of Pyocyanin Produced by *Pseudomonas Aeruginosa* Isolated from Different Human Infections // European Journal of Scientific Research, 2010, 47, 405.
3. Stephen S. Baron, Grace Terranova, and John J. Rowe, Molecular Mechanism of the Antimicrobial Action of Pyocyanin// CURRENT MICROBIOLOGY, 1989, 18, 223.
4. Mentel M., Ekta G., Mavrodi D., Of Two Make One: The Biosynthesis of Phenazines//ChemBioChem. 2009, 10, 2295.

Научное здание

**ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ИНФЕКЦИОННОЙ
ПАТОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА: ВЫЗОВЫ И ПОИСК
РЕШЕНИЙ**

**ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ
ИНФЕКЦИОННОЙ ПАТОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА:
ВЫЗОВЫ И ПОИСК РЕШЕНИЙ**

Материалы

Всероссийской научно-практической конференции с
международным участием, посвященной 100-летию кафедры
микробиологии и вирусологии СибГМУ

г. Томск, 20-21 ноября 2019 года

Издательство СибГМУ
634050, г. Томск, пр. Ленина, 107
тел. 8(382-2) 51-41-53
факс. 8(382-2) 51-53-15
E-mail: otd.redaktor@ssmu.ru

Авт. лист 7,65. Подписано в печать 18.11.2019 г.

Электронное издание

