

**Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
"Казанский Государственный Медицинский Университет"
Министерства здравоохранения Российской Федерации**



**Материалы
Второй ежегодной заочной
научно-практической конференции,
приуроченной к 200 - летию
Казанского государственного медицинского университета
«Микробиология в современной медицине»
(Казань, 26 апреля 2014 г.)**



Материалы
Второй ежегодной заочной научно-практической
конференции,
приуроченной к 200 - летию
Казанского государственного медицинского университета
«Микробиология в современной медицине»

Казань, 26 апреля 2014 г.

Организаторы Второй ежегодной заочной научно-практической конференции, приуроченная к 200 - летию Казанского государственного медицинского университета

«Микробиология в современной медицине»

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Казанский государственный медицинский университет» министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра микробиологии:

Поздеев О.К. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой микробиологии Казанского государственного медицинского университета

Мусина Л.Т. – д.м.н., профессор кафедры микробиологии Казанского государственного медицинского университета

Савинова А.Н. – к.б.н., доцент кафедры микробиологии Казанского государственного медицинского университета

Валеева Ю.В. – к.м.н., доцент кафедры микробиологии Казанского государственного медицинского университета

Оглавление

АНАЛИЗ МИКРОБНОГО ПЕЙЗАЖА У БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ (СДС)

С.Б. Ахметова, Е.Н. Котенева, Г.А. Абдулина, А.Б. Николаева, Р.А. Мухаметжанова 8

ОЦЕНКА МУТАГЕННЫХ И ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ НА ХИТОЗАНЕ ФЕРМЕНТОВ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ РАНОЗАЖИВЛЯЮЩИХ ПРЕПАРАТОВ

Д.Р. Байдамина, М.Г. Холявка, А.Р. Каюмов 11

ВЫДЕЛЕНИЕ ВИРУСОВ БАКТЕРИЙ *SAIMONELLA TYPHIMURIUM* ИЗ РАЗНООБРАЗНЫХ ПОЧВ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН

К.И. Гарифулина, Р. Шах Махмуд 12

ЛЕКАРСТВЕННО-УСТОЙЧИВЫЕ ШТАММЫ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* – ГЛОБАЛЬНАЯ ПРОБЛЕМА СОВРЕМЕННОЙ ФТИЗИАТРИИ

Н.Н. Дробот., Н.П. Шевченко., Е.Г. Кондратьева, А.Я. Игошкина 13

МЕСТНАЯ ТЕРАПИЯ ВОСПАЛЕНИЯ ГЛОТКИ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ

Н.У. Нарзуллаев, У.И. Нуров, С.Ф. Сулейманов, Ф.И. Тожиев, Ш.А. Юсупов 15

ПРИМЕНЕНИЕ АНТИБИОТИКА АБАКТАЛ У ПАЦИЕНТОК С ГИНЕКОЛОГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

М.А. Тухтаева, Г.С. Рамазонова, Г.С. Сулейманова, С.Ф. Сулейманов 17

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МАЛОИНВАЗИВНЫХ МЕТОДОВ У БОЛЬНЫХ С МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХОЙ

Ш.Т. Ураков, Т.Я. Мусоев, Э.С. Саъдиев, А.А. Расулов 19

ПРОНИЦАЕМОСТЬ МЕМБРАНЫ И АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ КЛЕТОК *STARHYLOCOCCUS AUREUS* ПРИ ДЕЙСТВИИ ФУРАНОНОВ И АЦИЛИРОВАННОГО ГОМОСЕРИНЛАКТОНА

Н.В. Белоногова, Е.С. Крылова, А.Б. Маргулис 21

ОПАСНОСТЬ ИНФИЦИРОВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА ПРИ КОНТАКТЕ С ДИКИМИ И ЭКЗОТИЧЕСКИМИ ЖИВОТНЫМИ

Р.Я. Гильмутдинов 23

ОЦЕНКА АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ГИДРАЗОНОВ ДИМЕФОСФОНА ВК-500 И ВК-502 В СРАВНЕНИИ С ДИМЕФОСФОНОМ И ИЗОНИАЗИДОМ

Л.Р. Кашапов, Р.С. Гараев, О.К. Поздеев, М.П. Шулаева, Б.И. Бузыкин, Д.А. Татаринов 27

ОЦЕНКА АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ ЛИСТЬЕВ *SALVIA OFFICINALIS L.*

А.С. Макарова, Л.Т. Мусина, Р.Ш. Хазиев, А.Н. Николаева 28

ВНУТРИВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ СТАФИЛОКОККОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ НОСИТЕЛЕЙ И ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ <i>О.Е. Пунченко</i>	29
ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ РНКАЗЫ БИНАЗЫ И БЛЕОМИЦИНА НА КЛЕТКИ РАКА ЛЕГКИХ ЧЕЛОВЕКА A549 <i>А.М. Макеева, Йесуф Адем Сирай, П.В. Зеленихин</i>	31
СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ АНТИРАБИЧЕСКОЙ ВАКЦИНАЦИИ <i>А.В. Имангулова, Г.В. Скрыбин, Л.Т.Мусина</i>	32
ВНУТРИБОЛЬНИЧНАЯ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННАЯ ИНФЕКЦИЯ, ОБУСЛОВЛЕННАЯ СИНЕГНОЙНОЙ ПАЛОЧКОЙ <i>М.В. Кириллова, Л.Т. Мусина</i>	34
<i>BACILLUS THURINGIENSIS</i> VAR. <i>SUBTOXICUS</i> B-388 В СОВРЕМЕННОЙ КЛАССИФИКАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ <i>Е.В. Дудкина, В.В. Ульянова, Р. Шах Махмуд, В.И. Вершинина, О.И. Ильинская</i>	36
ЗНАЧЕНИЕ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ КАРБАПЕНЕМАЗА-ПРОДУЦИРУЮЩИХ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ <i>К.Г. Косякова, О.А. Каменева, Л.А. Рощина</i>	37
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ОБРАЗОВАНИЯ N-АЦЕТИЛ-D-ГЛЮКОЗАМИНА У ШТАММОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЧУМЫ ПРИ ТЕМПЕРАТУРАХ 28 °C И 37 °C <i>Е.И. Кошель, Н.А. Видяева, Л.В. Анисимова, Л.А. Новичкова, Г.А. Ерошенко</i>	39
ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ШТАММОВ <i>Yersinia pestis</i> МЕТОДОМ ПЦР <i>К.А. Никифоров, Г.Н. Одинокоев, Г.А. Ерошенко</i>	41
ХАРАКТЕРИСТИКА УСТОЙЧИВОСТИ К ЛЕКАРСТВЕННЫМ ПРЕПАРАТАМ БАКТЕРИЙ РОДА <i>LACTOBACILLUS</i> ИЗ ПРОБИОТИКОВ И КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ <i>Д.Р. Ахатова, Н.Л. Бруслик, Д.Р. Яруллина, С.Р. Абдулхаков, О.Н. Ильинская</i>	42
ОЦЕНКА АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ ЛИСТЬЕВ <i>SALVIA OFFICINALIS</i> L. <i>Л.Т.Мусина, Р.Ш. Хазиев, А.С.Макарова, А.Н.Николаева</i>	44
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ <i>MLVA</i> ТИПИРОВАНИЯ ДЛЯ КЛАСТЕРИЗАЦИИ ШТАММОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЧУМЫ ИЗ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ И СОПРЕДЕЛЬНЫХ ГОСУДАРСТВ <i>Н.Ю. Носов, Н.Ю. Шавина, Н.П. Гусева, Г.А. Ерошенко</i>	45
ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ <i>STR. MUTANS</i> У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА В РАЗЛИЧНЫХ БИОТОПАХ ПОЛОСТИ РТА <i>Е.В. Безвушко, К.Г. Мусий-Семенцев</i>	47
КАНДИДОЗНЫЙ ДИСБИОЗ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ ГАСТРОДУОДЕНИТАМИ <i>С.В. Соковнина, М.В. Кузьев, Е.Г. Вихарева</i>	49

ИММУНОГЕННЫЕ СВОЙСТВА ГИАЛУРОНИДАЗЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ <i>С.Ф. Сулейманов, Б.Ю. Музаффаров, С.С. Восиев, Ш.И. Ильназарова</i>	50
ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ПРОТИВОКОКЛЮШНЫХ АНТИТЕЛ В СЛЮНЕ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ПО СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИМ ПОКАЗАНИЯМ ИФА <i>А.Н. Савинова, Ю.В. Валеева</i>	52
ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ГЛУБОКИХ ПИОДЕРМИЙ ЛИЦА <i>О.Е. Торгашова</i>	54
ИНГИБИТОРЫ ОБРАЗОВАНИЯ БИОПЛЕНОК БАКТЕРИЯМИ <i>B.SUBTILIS</i> НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ ФУРАНОНОВ И ПИРРОЛИНОВ <i>Э.Н. Хакимуллина, Е.Ю. Тризна, А.Р. Курбангалиева, А.Р. Каюмов</i>	56
МОНИТОРИНГ УСТОЙЧИВОСТИ <i>HELICOBACTER PYLORI</i> К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ, ПРИМЕНЯЕМЫМ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ЭРАДИКАЦИОННОЙ ТЕРАПИИ. <i>П. Е. Гуляев</i>	57
ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ ЧИСТОТЫ РУК УЧАЩИХСЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО КОЛЛЕДЖА ДО И ПОСЛЕ ЗАНЯТИЙ <i>А.А. Закирова, С.Н. Мамедова, Г.З. Хабирова, Е.Р. Фёдорова</i>	58
АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ: ПРИЧИНЫ И ПУТИ ПРЕОДОЛЕНИЯ. <i>С.Н. Мамедова, Ю.В. Валеева</i>	60
ВОЗМОЖНОСТЬ ОБЩЕНИЯ МЕЖДУ МИКРООРГАНИЗМАМИ ПОСРЕДСТВОМ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ВОЛН. <i>К. В. Рязанов, Ю.В. Валеева</i>	63
ЛЕКАРСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ВОЗБУДИТЕЛЯ У ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННЫХ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ В ПЕНИТЕНЦИАРНЫХ УЧРЕЖДЕНИЯХ КРАСНОЯРСКОГО КРАЯ <i>Н.М. Корецкая, В.Ф. Элярт, Ю.Н. Белоусова</i>	64
АПРОБАЦИЯ МЕТОДА ХОДЖ-ТЕСТ, КАК ФАКТОРА ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИБИОТИКОТЕРАПИИ. <i>Е.А. Кравченко, Р.Г. Ганеева, М.П. Шулаева</i>	66
СОВРЕМЕННЫЙ ПОДХОД К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ АНТИСЕПТИКОВ В СОСТАВЕ ЗУБНЫХ ПАСТ <i>Л.Т. Мусина, А.Б. Абдрашитова</i>	68
СОСТОЯНИЕ МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА ПОЛОСТИ РТА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ АНТИСЕПТИЧЕСКИХ ЗУБНЫХ ПАСТ В КАЧЕСТВЕ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО СРЕДСТВА <i>А.Б. Абдрашитова, Л.Т. Мусина</i>	70
МИКРОБНАЯ ЧИСТОТА КОСМЕТИЧЕСКИХ КРЕМОВ <i>А.Н. Савинова, В.А. Бухалова</i>	72
ГЕМОРРАГИЧЕСКАЯ ЛИХОРАДКА С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН <i>А.А. Хабибуллина, Ю.В. Валеева</i>	74

МОНИТОРИНГ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ КЛЕЩЕВЫМ ЭНЦЕФАЛИТОМ В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН	
<i>Ч.Р. Латифиуллина, Ю.В. Валеева</i>	76
СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ УРОГЕНИТАЛЬНЫХ МИКОПЛАЗМОЗОВ	
<i>А.Н. Савинова, Г.Х. Хусаинова</i>	78

АНАЛИЗ МИКРОБНОГО ПЕЙЗАЖА У БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ (СДС)

С.Б. Ахметова¹, Е.Н. Котенева¹, Г.А. Абдулина¹, А.Б. Николаева¹, Р.А. Мухаметжанова².

Карагандинский государственный медицинский университет, кафедра микробиологии¹,
Карагандинский государственный медицинский университет, кафедра иммунологии²
г. Караганда, Казахстан

Вне всякого сомнения, что раневая инфекция одно из частых осложнений сахарного диабета. В течение жизни 12–15% больных сахарным диабетом страдают диабетической остеоартропатией, в 85% случаев нетравматических ампутаций у больных сахарным диабетом предшествует раневая инфекция стопы, это подтверждает необходимость рациональной терапии. Однако, до сих пор не полностью решены проблемы лечения хирургической инфекции у больных сахарным диабетом за счет отличительных особенностей течения воспалительного процесса, которые вызваны ухудшением локального кровообращения вследствие развития микро- и макроангиопатий с последующим нарушением метаболизма в тканях раны.

Материал и методы. Объектом исследования являлись 27 больных инсулинозависимым сахарным диабетом с СДС в возрасте от 47 до 76 лет, которые находились на лечении в хирургическом отделении «Городской больницы №1» и «Областного медицинского центра». В контрольную группу были включены пациенты (30 больных) с наличием раневого процесса на нижних конечностях без сахарного диабета. Материалом для исследования явилось раневое отделяемое больных. Количественный учет микроорганизмов с раневой поверхности по методу Гоулди. Идентификация микроорганизмов проводилась при помощи MALDI – TOF спектрометрии (BRUKER 2012). Параллельно проводилась первичная микроскопия микроорганизмов раневой поверхности для обзорного представления о микробной флоре исследуемых участков. Резистентность микроорганизмов к антибиотикам определялась методом бумажных дисков.

Результаты: В результате проведенного исследования было идентифицировано 49 штаммов возбудителей у 27 пациентов. При этом было установлено, что в очаге поражения на стопе выделяется как монокультура (40,7%), так и ассоциация микроорганизмов (59,3%). В ассоциации, выделенной из раневого отделяемого, было идентифицировано 16 вариантов комбинаций микроорганизмов. Наиболее часто встречались комбинации: *Staphylococcus aureus* и *Enterobacteriaceae spp.*, *Proteus spp.*, *Candida spp.*, *Pseudomonas spp.* были выделены только в ассоциации в основном со стафилококками. Основными представителями среди выделенных микроорганизмов являются грамположительные микроорганизмы (54%). В структуре грамположительной флоры наиболее часто встречался *Staphylococcus aureus* (18 штаммов), что составило (38%) от общего числа выделенных микроорганизмов, число коагулазонегативных стафилококков 8 штаммов, что составило 16%, при этом коагулазонегативные стафилококки были представлены одним видом *Staphylococcus haemolyticus*. Среди грамотрицательных микроорганизмов преобладали *Enterobacteriaceae spp.* – 34%, а именно *Enterobacter cloacae* – 5 штаммов (10%), *Escherichia coli* и *Enterococcus faecalis* по 6 штаммов и *Proteus mirabilis* 2 штамма, что составило по 12%, 12% и 4% соответственно, а также были идентифицированы *Acinetobacter baumannii* 2 штамма (4%), *Pseudomonas aeruginosa* и *Candida albicans* по 1 штамму, 2% и 2% соответственно.

Таким образом, согласно результатам бактериологического исследования у больных с

синдромом диабетической стопы, в структуре выделенных микроорганизмов преобладают коагулазопозитивные стафилококки (*Staphylococcus aureus*), этиологическая значимость коагулазонегативных стафилококков и представителей рода *Enterobacteriaceae* равнозначна. Значительно реже выделяются представители рода *Acinetobacter*, *Pseudomonas* и *Candida*, при этом последние выделялись исключительно как компонент микробных ассоциаций.

При бактериологическом обследовании 30 больных контрольной группы, имеющих хирургическую раневую инфекцию нижних конечностей без диабетического фона было идентифицировано 42 штамма условно-патогенных микроорганизмов. Преобладали монокультуры у 22 пациентов, что составило (73,3%) микроорганизмы в ассоциации были обнаружены у 8 пациентов (26,7%). Наиболее часто компоненты микробных ассоциаций были представлены стафилококком с грамотрицательными микроорганизмами (50%), а также со стрептококками (25%). Ассоциации с участием представителей родов *Candida* и *Proteus* выявлены в 12,5%. Грамположительная микрофлора была представлена *Staphylococcus aureus* (12 штаммов), *Staphylococcus haemolyticus* (6 штаммов), и *Streptococcus pyogenes* (6 штаммов), 27,3%, 13,6% и 13,6% соответственно. Представители семейства *Enterobacteriaceae* преобладали среди грамотрицательных бактерии (13 штаммов), в том числе *Enterobacter spp.* (6 штамма), *E.coli* (3 штамма), *Proteus spp.* и *Klebsiella spp.* по 2 штамма. Идентифицированы микроорганизмы родов *Candida* (2 штамма), *Acinetobacter* (2 штамма) и *Pseudomonas* (1 штамм). На первом этапе исследования проведено изучение сложившейся практики применения антибактериальных препаратов у больных с СДС. При проведении анализа было выяснено, что сложившаяся практика проведения антибактериальной терапии у больных с СДС по ряду позиций не соответствует установленным стандартам. Бактериологическое мониторингирование микробной обсемененности местного раневого процесса, проводили при поступлении пациента в стационар, до начала антибиотикотерапии, при первичном осмотре всеми специалистами, в динамике проводимого исследования следующий забор материала из раны, проводили на 8-10 сутки комплексного лечения, проводимого в изучаемых группах. На 8–10-е сутки от начала лечения показатель микробной обсемененности ран достоверно снизился у больных с СДС $(3,8 \pm 0,08) \times 10^5$ КОЕ/г, однако порогового уровня он не достиг, аналогичная ситуация прослеживалась и в контрольной группе, КОЕ/г снизилось до $(3,1 \pm 0,6) \times 10^4$ ($p < 0,01$). Антибактериальная терапия достоверно снизила микробную обсемененность *S.aureus*, *S.haemolyticus*, *E.coli*, *E.cloaceae*, однако КОЕ/г продолжал оставаться критическим, этиологически значимым для всех вышеупомянутых возбудителей, за исключением *S.haemolyticus*. У пациентов контрольной группы в большинстве случаев высевался *S.aureus*, микробная обсемененность составила $(5,9 \pm 0,86) \times 10^5$ КОЕ/г. В результате лечения, независимо от выделенного микроорганизма, отмечалось снижение микробной обсемененности.

Таким образом, в комплексе с рациональной антибиотикотерапией на 8-10 день отмечалось достоверное снижение микробной обсемененности у пациентов контрольной группы, в то время как у больных с СДС обсемененность снижалась, но продолжала оставаться выше критического уровня. Основным антибактериальным препаратом, применяемым у данной категории больных, был цефазолин (82% случаев), преимущественно при внутривенном способе введения. Для проведения такого лечения отсутствовала доказательная база эффективности данной технологии. Все заключения о высокой эффективности применяемых методов лечения носили предположительный характер. В связи с этим в настоящем исследовании представлялось интересным оценить адекватность проводимой антибиотикотерапии. Для решения данной проблемы на первом этапе исследования было необходимо изучить чувствительность

микрофлоры, выделенной из раневого отделяемого у пациентов с СДС к различным группам антибактериальных препаратов.

Для большинства антибиотиков разработаны критерии, по которым выделенный микроорганизм подразделяется на «чувствительный», «умеренно устойчивый», имеющий промежуточную чувствительность, а также «устойчивый». Умеренная устойчивость может быть преодолена увеличением дозы антибиотика, но в клинических условиях не стоит ожидать от данного антибиотика надежного действия. Следуя рекомендации авторов, при анализе результатов промежуточная чувствительность и устойчивость были объединены. Было установлено, что микрофлора раневого отделяемого у больных с СДС имела высокую резистентность ко многим антибактериальным препаратам – пенициллин, цефалоспорины I поколения, аминогликозидам I и II поколения; достаточно высокую резистентность обнаруживалась к фторхинолонам I поколения (39%); наиболее эффективными антибиотиками в отношении выделенных микроорганизмов были гликопептиды, аминогликозиды III поколения, карбопены и цефалоспорины III поколения. Однако, при этом чувствительность не превышала 70%, за исключением ванкомицина. Резистентность к оксациллину зарегистрирована у одного штамма *S. aureus*. У данного штамма регистрировалась резистентность ко всем антибиотикам, за исключением ванкомицина. Полирезистентность к двум и более антибиотикам наблюдалась в 61% (11/18) случаев. Представители семейства *Enterobacteriaceae* составили порядка 28,7% (13 из 49). Резистентность к ампициллину – 77% (10/13), цефтриаксону – 31% (4/13). Возбудители семейства *Enterobacteriaceae* сохраняли высокую чувствительность к меропенему (76%). Полирезистентность к двум и более антибиотикам наблюдалась в 53% (7/13) случаев.

При совокупной оценке чувствительности микрофлоры к антибактериальным средствам было установлено, что микрофлора раневого отделяемого у больных с СДС имела высокую резистентность ко многим антибактериальным препаратам, включая цефалоспорины III поколения и фторхинолоны. Чувствительность штаммов *S. aureus* к антибиотикам у пациентов контрольной группы несколько отличалась в сравнении с основной группой. Количество чувствительных штаммов к амикацину, фторхинолонам, меропенему, цефтриаксону, амоксиклаву колебалось 66% до 75%. Резистентность к ванкомицину в контрольной группе, также как и в основной, не зарегистрирована. Резистентность к оксациллину также не установлена, таким образом MRSA в группе сравнения не идентифицированы. Полирезистентность к двум и более антибиотикам наблюдалась в 33% (4/12) случаев.

Таким образом, высокая распространенность устойчивой к антибиотикам микрофлоры, индикация полирезистентных штаммов у больных с сахарным диабетом с СДС во многих случаях определяет эмпирическую антибиотикотерапию мало эффективной, а также способствует формированию и распространению антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов.

ОЦЕНКА МУТАГЕННЫХ И ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ НА ХИТОЗАНЕ ФЕРМЕНТОВ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ РАНОЗАЖИВЛЯЮЩИХ ПРЕПАРАТОВ

Д.Р. Байдамынина, М.Г. Холявка, А.Р. Каюмов.

ФГАУО ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань

Одним из современных направлений биотехнологии является создание перевязочных средств с иммобилизованными на нерастворимых носителях ферментами для лучшего ранозаживления. При закреплении ферментов на нерастворимых носителях получают гетерогенные биокатализаторы, которые обладают рядом преимуществ: значительно повышается не только стабильность, но и эффективность полученного препарата за счет возможности управления процессом протекания реакции. Перспективными носителями являются хитозаны. Молекулы хитозана содержат гидроксильные и аминокислотные группы, его полимерная матрица позволяет иммобилизовать ферменты, как внутри сетки, так и на ее поверхности. Производные хитозанов характеризуются нетоксичностью, биоразлагаемостью, биосовместимостью и слабой иммуногенностью. Целью работы был анализ степени токсичности ферментов и различных хитозанов для клеток про- и эукариот. Концентрация ферментов составляла 1 (планируемая фармацевтическая концентрация) и 10 мкг/мл, что соответствует превышению планируемой фармацевтической концентрации в 10 раз. Установлено, что сам трипсин и все варианты хитозана не продемонстрировали мутагенного действия в тесте Эймса. Напротив, РНКазы и ДНКазы показали мутагенный эффект, и, следовательно, не могут быть рекомендованы к использованию.

Цитотоксичность соединений исследовали на линии MCF7 клеток рака молочной железы человека с помощью метаболического MTS – теста. Ни одно из исследуемых соединений не приводило к снижению активности митохондриальной дегидрогеназы по окислению MTS. Следовательно, все соединения не являются токсичными и могут быть использованы в качестве ранозаживляющих препаратов. Кроме MTS теста, также исследовали морфологию клеток, пролиферирующих в присутствии ферментов и хитозанов. Результаты микроскопии показали, что ни одно из исследуемых соединений не вызывало изменений в морфологии клеток и не оказывало цитостатического эффекта, в отличие от положительного контроля – азида натрия. Надо отметить, что присутствие трипсина значительно усиливало пролиферацию клеток, следовательно, можно ожидать высокого заживляющего эффекта этого фермента. Присутствие всех видов хитозана кроме сукцината хитозана (Рисунок 7, 8) также не нарушало морфологии клеток. Нерастворимые примеси в сукцинате хитозана значительно обрастали клетками измененной формы, в меньшей степени такая картина наблюдалась в случае высокомолекулярного хитозана. Этот факт также требует более глубокого исследования, поскольку данный эффект может негативно сказаться при использовании данных видов хитозанов при клиническом использовании с иммобилизованными ферментами.

ВЫДЕЛЕНИЕ ВИРУСОВ БАКТЕРИЙ *SALMONELLA TYPHIMURIUM* ИЗ РАЗНООБРАЗНЫХ ПОЧВ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН

К.И. Гарифулина, Р. Шах Махмуд.

ФГАУО ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань

Многолетнее применение антибиотиков для лечения различных заболеваний привело к возникновению множественной лекарственной устойчивости бактериальных штаммов. Разработка нового препарата антибиотика, его клинические испытания и регистрация занимают многие годы и экономически нецелесообразно, поэтому найти альтернативный вариант всегда актуально. В настоящей работе нашей целью явилось найти разнообразные бактериофаги клинически значимой бактерии *Salmonella typhimurium*.

В ходе исследования, в качестве вирусосодержащего образца мы отобрали 6 образцов почвы из разнообразных экологических ниш двух регионов Республики Татарстан, а именно Альметьевского и Высокогорского. В качестве образцов были взяты почвы из леса, поля, черноземная почва, городские чистые и нефтезагрязненные почвы. Подбор бактериофаг-содержащих образцов проводился при использовании стерильных перчаток и скальпеля, а также стерильных банки и чашки. Полученные образцы отбирали из заранее выбранных источников на глубине 10 см. Все образцы транспортировали и хранили в стерильной посуде в лабораторном стерильном боксе.

Предварительно индикаторная культура бактерии *Salmonella typhimurium* была проверена на наличие профага в геноме при помощи метода индукции умеренного фага, который заключался в следующем. Использовали ночную культуру лизогенного штамма. Вызвали индукцию умеренного фага ультрафиолетом, а также прогреванием культуры. В первом случае культуру перенесли в стерильную чашку Петри и облучили в темноте. Во втором случае колбу с культурой прогрели в темноте. Из убитой таким образом культуры определили титр фага по методу Грациа, используя в качестве тест-культуры индикаторный штамм. Результат оказался отрицательным, что позволило использовать имеющуюся культуру бактерии *Salmonella typhimurium* в качестве индикаторной.

Дальнейшая работа включала в себя следующие этапы. Образцы почвы массой 200 мкг смешивали с индикаторной культурой бактерий, затем инкубировали. Полученную смесь тщательно очищали от земли и бактерий при помощи центрифугирования в течении 30 мин, пропускания через бумажный фильтр и последующей тепловой обработки, а также добавлением хлороформа. Очищенная суспензия была проверена на наличие бактериофагов путем посева модифицированным методом Грациа.

В результате проделанной работы нами было установлено, бактериофаги *Salmonella typhimurium* бесспорно присутствуют в данных образцах. При этом количество бактериофагов в разных почвах значительно варьируется. Мы установили, что значение бляшкообразующих единиц (БОЕ/мл) в полевой почве двукратно кратно выше, чем в городской чистой почве и восьмикратно выше, чем в лесной почве. Что неудивительно, так как полевая почва богата на содержание различных микроорганизмов, а следовательно, и на баететриофагов, специфичных в их отношении. Бактериофаг *Salmonella typhimurium* был выделен из лесной, полевой, городской чистой, черноземной, а также городской нефтезагрязненной почвы в количестве 1.5 мл. Зоны всегда были крупные и отчетливо виднелись в проходящем свете, что говорит о высокой

активности и повышенного содержания бактериофагов в суспензии. Первичные бактериофаги были высоко концентрированными, поэтому титр бактериофага удалось посчитать только при разведении суспензии 10^{-5} . Поэтому вполне перспективной является идея о восстановлении масштабного производства бактериофагов, в связи с их необычайной эффективностью и безвредностью. В дальнейшем планируется получение большего объема выделенного бактериофага для дальнейшего изучения и определения его свойств.

Таким образом, нами были выделены 6 бактериофагов *Salmonella typhimurium*, которые в дальнейшем можно успешно использовать в качестве противосальмонеллезных препаратов.

Авторы выражают глубокую благодарность за всестороннюю помощь в проведении эксперимента профессору, д. н. О.Н. Ильинской и старшему научному сотруднику, к.б.н. В.В. Ульяновой.

ЛЕКАРСТВЕННО-УСТОЙЧИВЫЕ ШТАММЫ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* – ГЛОБАЛЬНАЯ ПРОБЛЕМА СОВРЕМЕННОЙ ФТИЗИАТРИИ

Н.Н. Дробот., Н.П. Шевченко., Е.Г. Кондратьева, А.Я. Игошкина

ГБОУ ВПО «Кубанский государственный
медицинский университет» МЗ РФ,
ГБУЗ «Клинический противотуберкулезный
диспансер», г. Краснодар, Россия

В настоящее время туберкулез продолжает оставаться одной из наиболее распространенных инфекций в мире и представляет опасность для здоровья населения. Возбудителем туберкулеза инфицировано около трети населения планеты. Ежегодно от туберкулеза умирает 3 млн. человек. Примерно третья часть от общего числа больных являются бактериовыделителями, т.е. существует обширный резервуар туберкулезной инфекции. В последние годы туберкулез стал характеризоваться высокой тенденцией к прогрессированию, быстрым развитием полостей распада, лекарственной устойчивостью (ЛУ) возбудителя болезни к противотуберкулезным препаратам (ПТП). Одной из причин сохранения сложной эпидемической ситуации по туберкулезу является увеличение количества штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, устойчивых к специфическим химиопрепаратам. Особую тревогу вызывает рост числа штаммов микобактерий туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) и широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ). Туберкулезный процесс, вызванный устойчивыми штаммами микобактерий туберкулеза, трудно поддается лечению и приводит к развитию хронических форм заболевания. Проблема лекарственно-устойчивого (ЛУ) и мультирезистентного (МЛУ) туберкулеза (ТБ) является реальной задачей фтизиатрической практики и одним из важнейших нерешенных медицинских и социальных вопросов. Большинство отечественных фтизиатров и организаторов здравоохранения считают распространение ЛУ туберкулеза одной из основных причин низкой эффективности лечения и высокой смертности от туберкулеза.

Цель исследования: в связи со сложной ситуацией по туберкулезу в современных условиях, снижением эффективности терапии больных туберкулезом актуально изучение лекарственной устойчивости (ЛУ) микобактерий туберкулеза (МБТ) к противотуберкулезным препаратам (ПТП), анализ возможностей противотуберкулезной терапии при лекарственно-устойчивом туберкулезе (ЛУ) у впервые выявленных больных.

Материалы и методы: определена чувствительность МБТ, выделенных от больных туберкулезом легких. Выполнен анализ результатов бактериологического исследования мокроты (промывных вод бронхов) впервые выявленным больным туберкулезом легких за период 2009-2012г.г. Чувствительность культур изучали к стрептомицину, изониазиду, этамбутолу, протионамиду, рифампицину, канамицину, фторхинилонам. У 216 больных проанализированы результаты бактериологического исследования мокроты (промывных вод бронхов) на чувствительность к противотуберкулезным препаратам (ПТП), проведено сопоставление эффективности лечения больных с ЛУ и лекарственной чувствительностью (ЛЧ) к ПТП.

Результаты: нами проанализирована динамика лекарственной устойчивости штаммов МБТ туберкулеза к лекарственным противотуберкулезным препаратам. Установлена тенденция увеличения числа впервые выявленных больных с устойчивостью МБТ к ПТП за период 2009-2012г.г. с 60,4% до 65,1%. Наиболее часто встречалась устойчивость к стрептомицину 83,1%-89,6%, в этом же интервале времени определена ЛУ к изониазиду (84,1%-90,6%). К рифампицину устойчивость зарегистрирована в 35,7%-33,8% случаев, к этамбутолу, протионамиду, канамицину ЛУ обнаружена значительно реже и имеет тенденцию к снижению за указанный период. Так устойчивость к этамбутолу составляет 25,8%-7,9%; протионамиду 18,8%-4,4%; канамицину 21,6%-14,5%. Монорезистентность наблюдалась у 16,5% больных, из них лекарственная устойчивость установлена к стрептомицину у 53,8%, к изониазиду – 34,9%, рифампицину – 8,5%, этамбутолу -2,8%. По сравнению с 2009г. в 2012г. наметилась тенденция к уменьшению числа бактериовыделителей с монорезистентностью к ПТП. В тоже время возросло число бациллярных больных с множественной и широкой лекарственной устойчивостью к препаратам с 2009г. по 2012г. и составила соответственно: 44,5%; 81,4%; 74,5%; 75,8%.

Проведя анализ динамики лекарственно-устойчивых штаммов микобактерий туберкулеза, мы изучили результаты ЛУ к противотуберкулезным препаратам, так же проведено сопоставление результатов лечения впервые выявленных больных с ЛУ и сохраненной ЛЧ к противотуберкулезным препаратам. Монорезистентность установлена в 16,7%, в том числе к стрептомицину – 51,5%, изониазиду – 34,8%, рифампицину- 7,1%. Множественная ЛУ - у 35,6% пациентов. Выделены две группы наблюдения: 1-я с ЛУ, 2-я – с сохраненной ЛЧ. Обе группы представлены впервые выявленными больными туберкулезом легких, находящимися под наблюдением, идентичны по гендерному признаку, возрасту, характеристикам туберкулезного процесса. Лечение проводилось в соответствии со стандартными режимами (приказ от 21 марта 2003г. №109 МЗ РФ) и учетом ЛУ к ПТП. Продолжительность интенсивной фазы в 1-й группе на 3,5 месяца больше, чем во 2-й; основной курс терапии ПТП на 4,1 мес. продолжительнее у пациентов с ЛУ МБТ к ПТП. Присутствие ЛУ МБТ к ПТП увеличивает продолжительность сроков лечения больных, затрудняет процесс лечения и его эффективность. Побочные реакции (ПР) на противотуберкулезные препараты в 1-й группе больных встречались в 1,7 раза чаще, чем во 2-й. Наблюдались ПР в виде токсических гепатитов, нарушении функций сердечно-сосудистой и нервной системы и др. Нами установлено, что клиническое излечение у больных после завершения основного курса лечения по поводу туберкулезного процесса с МЛУ МБТ наступало в 2 раза реже, чем у лиц с чувствительностью МБТ к ПТП. При этом частота прекращения бактериовыделения у больных с впервые выявленным туберкулезом с чувствительностью МБТ к ПТП достигает 80,5 %, а при туберкулезе, вызванном устойчивыми штаммами возбудителя, – только 48,9 %. Закрывание полостей распада в 1-й группе больных наступает в 35,7% и на 2,6 месяца позже, чем во 2-й группе.

Выводы: лечение больных с ЛУ более длительное, менее эффективное и дорогостоящее. Тенденция к росту числа больных с ЛУ создает неблагоприятную эпидемиологическую обстановку и формирует предпосылки к снижению качества и исхода лечения больных туберкулезом. За период наблюдения отмечается неблагоприятный факт - увеличение числа впервые выявленных больных с лекарственной устойчивостью МБТ к ПТП, в том числе с множественной и широкой ЛУ. Представленные данные имеют важное значение при лечении больных туберкулезом легких: противотуберкулезная терапия должна быть индивидуальной и адекватной лекарственной устойчивости МБТ к ПТП. Полученные данные создают предпосылки для персонификации превентивного лечения лиц, находящихся в контакте с бактериовыделителями. В сложившейся ситуации необходимо усиление мер контроля за организацией и эффективностью лечения больных лекарственно-устойчивым туберкулезом.

МЕСТНАЯ ТЕРАПИЯ ВОСПАЛЕНИЯ ГЛОТКИ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ

Н.У. Нарзуллаев, У.И. Нуров, С.Ф. Сулейманов, Ф.И. Тожиев, Ш.А. Юсупов

Бухарский государственный медицинский институт, г. Бухара

Разнообразие клинические проявлений ВИЧ-инфекции обусловлено присоединением оппортунистических инфекций, среди которых наибольшее значение имеют грибковые, бактериальные и вирусные инфекции. Поражение полости рта и слизистых оболочек глотки у ВИЧ-инфицированных детей относят к одним из первых клинических проявлений болезни. У детей СПИД может проявиться рецидивирующими или атипичными заболеваниями уха, околоносовых пазух, мастоидитом, тонзиллитом, фарингитом и др. Другое классическое проявление ВИЧ-инфекции, с которым может столкнуться оториноларинголог, – это развитие патологии глотки, особенно у детей с медленным прогрессированием заболевания.

Цель: Изучение эффективности применения препарата Аквалор–спрей для горла (Франция) при неосложненном фаринголарингите (НФЛ) у ВИЧ-инфицированных детей.

Материал и методы

Исследовали 35 ВИЧ-инфицированных детей с клиническими признаками легкой или средне-тяжелой формами НФЛ в возрасте от 1 до 14 лет. Из них 18 (51,4%) были мальчики и 17 (48,6%) – девочки.

Стартовой монотерапией для всех детей являлся Аквалор–спрей для горла, с экстрактами алоэ вера и римской ромашки. Рекомендуемая схема приема препарата: 3–4 впрыскиваний в полость рта 4–6 раз в сутки (распылитель направляется в заднюю стенку глотки) в течение 7 дней. Для оценки безопасности применения прием препарата пролонгировался до 1 мес. (схема применения оставалась прежней).

Осмотр больных проводился на 1, 3, 7– и 30–й день от начала приема препарата и включал субъективную оценку (10–балльная визуально-аналоговая шкала – ВАШ (першение, боль в горле, наличие отделяемого в рото– и гортаноглотке, качество голоса, результаты лечения) и объективную оценку (фарингоскопия, эндоскопическое обследование гортани, микробиологическое исследование мазка из глотки).

До начала приема препарата у ВИЧ-инфицированных больных детей брали мазок со слизистой оболочки глотки на флору для проведения микробиологических исследований. При выявлении патогенной микрофлоры в мазке/ах через 30 дней повторяли прием препарата. При

отсутствии положительной динамики на фоне приема препарата Аквалор–спрей для горла в качестве монотерапии допускалось подключение к лечению других препаратов, выбор которых зависел от конкретного клинического случая.

Мониторинг побочных явлений проводился на протяжении всего периода наблюдений.

Результаты исследований

При первичном осмотре дети и родители данных детей предъявляли следующие жалобы на здоровье ребенка: першение в горле разной степени выраженности – у 35 (100%); боль в горле (разной степени выраженности) – у 18 (51,4%). По данным ВАШ, на момент первичного осмотра у детей першение в горле составило 5,3 балла; боль в горле – 1,5 балла. При контрольном осмотре на 3–й день (по данным ВАШ) першение в горле суммарно оценивалось в 2,9 балла; боль в горле – 0,49 балла. Жалобы на першение в горле были у 25 (71,4%) детей, а болевой симптом разной степени – у 9 (25,7%). Не отмечено жалоб на першение в горле у 5 (14,3%) детей и на боль – у 21 (60,0%).

При контрольном осмотре на 7–й день (по данным ВАШ) першение в горле суммарно оценивалось в 0,14 балла; боль в горле – 0 баллов. Жалобы на першение в горле были у 2 (5,7%), а на боли – ни у одного ребенка.

Итак, основные симптомы НФЛ, ухудшающие качество жизни пациента (першение и боль в горле), изменялись следующим образом: выраженность симптома «першение в горле» к 3–му дню приема препарата уменьшилась почти вдвое, а к 7–му дню ещё более снижалась или же отмечалась в очень легкой форме (0,14 балла) у единичных пациентов. Болевой симптом не отмечался ни у одного пациента уже к 3–му дню от начала приема препарата.

Фарингоскопическая картина нормализовалась у всех больных после 7–дневного курса лечения. До начала лечения у 26 (74,3%) детей не выявлено роста патогенной флоры в мазках из глотки. У 14 (40,0%) детей отмечен рост условно-патогенной флоры (*Str. epidermidis*, *Str. viridens*). Однако выявлен рост и патогенной флоры: *Str. pneumonia* IV степени обсемененности у 2-х детей (5,7%), *St. aureus* III степени обсемененности – у 6–ти детей (8,57%), *H.influenza* IV степени обсемененности у – 2 детей (5,7%).

После 1–месячного применения препарата Аквалор–спрей для горла у больных с выявленной патогенной микрофлорой были взяты повторные мазки. Санации слизистой не произошло, но снизилась степень обсемененности патогенными микроорганизмами.

Эффективность проведенного 7–дневного лечения была следующей: выздоровление наступило у 30 (85,7%) детей; улучшение – у 6 (17,1%), отсутствие эффекта – у 4 (11,4%).

Анализ индивидуальных карт пациентов показал, что улучшение отмечено у больных с носительством *St. aureus*, а отсутствие эффекта – у пациентов с *Str. pneumonia* и *H.influenza*. Больные с вирусным фаринголарингитом (отсутствие роста патогенной флоры, наличие условно-патогенной флоры) отмечали полное выздоровление.

У 25 (71,4%) детей препарат Аквалор–спрей для горла использовался в качестве средства для монотерапии фаринголарингита. В остальных случаях больным дополнительно назначались препараты для орошения слизистой полости рта и глотки: производные гексэтидина – 6 (17,1%) детей, биклотимола – 8 (22,9%), фурацилин – 3 (8,6%), спрей для горла октенисепт – 8 (22,9%) детей.

Побочных эффектов и нежелательных реакций на фоне приема препарата Аквалор–спрей не было отмечено ни у одного больного.

Выводы:

1) Аквалор–спрей для горла является высокоэффективным средством в лечении НФЛ.

- 2) Аквалор–спрей снижает степень обсемененности патогенными микроорганизмами у ВИЧ-инфицированных детей с бактериальным НФЛ.
- 3) Аквалор–спрей хорошо переносится больными, совместим с другими местными препаратами (производными гексетидина, биклотимола: раствором фурацилина, спреем для горла октенисепт) и не вызывает побочных реакций.

ПРИМЕНЕНИЕ АНТИБИОТИКА АБАКТАЛ У ПАЦИЕНТОК С ГИНЕКОЛОГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

М.А. Тухтаева¹, Г.С. Рамазонова¹, Г.С. Сулейманова², С.Ф. Сулейманов¹

Бухарский государственный медицинский институт, г. Бухара
Академический лицей № 1 при Бухарском инженерно-
техническом институте высоких технологий², г. Бухара

Известно, среди гинекологических патологий хронические воспалительные заболевания женских половых органов (ХВЗЖПО) занимают первое место. Широкое применение лекарственных средств, в том числе и антибиотиков, не приводит к снижению заболеваемости данной патологией. Высокая частота ХВЗЖПО и их осложнения требуют поиска новых способов и средств лечения.

Целью исследования было исследование метаболизма оксида азота (NO) в лейкоцитах и проведение коррекции абакталом у пациенток с ХВЗЖПО.

Материал и методы

Были обследованы 62 пациентки с ХВЗЖПО, из которых у 13 (21,0%) выявили одностороннее, у 26 (11,9) – двустороннее обострение хронического воспаления придатков матки. Средний возраст пациенток с ХВЗЖПО составил $24,8 \pm 3,1$ лет. У большинства (69,3%) в анамнезе имелись указания на наличие трансмиссивных инфекций, а также отягощенный гинекологический – 57 (91,9%) и акушерский – 39 (62,9%) анамнез. Пациентки в зависимости от проведенного лечения были разбиты на 3 группы: 1-ая группа (n=20) получила оперативное лечение; 2-ая группа (n=21) получила традиционную парентеральную антибактериальную терапию; 3-ья группа (n=21) получила антибактериальную терапию непосредственно в полость малого таза способом длительной микро-катетерной терапии малого таза (ДМТМТ).

В качестве базового антибиотика был использован абактал в дозе 400 мг (двукратно) и метронидазол 0,5 % – 100 мл. Были использованы общеклинические, клинико-лабораторные и гинекологические методы обследования, ультразвуковое сканирование, лапароскопия. У пациенток определяли степень эндогенной интоксикации (ЭИ) по лейкоцитарному индексу интоксикации (ЛИИ) и определению молекул средней массы (МСМ). В выделенных из крови лейкоцитах определяли уровень оксида азота (NO) по сумме его метаболитов – нитритов (NO₂) и нитратов (NO₃) с помощью реактива Грейса, активность нитратредуктазы (НР) (4) и НАДФН-диафоразы (НД) определяли по Норе V.T., Vincent S.R. (1989).

Результаты исследований

Проведенные исследования показали, что к концу оперативного лечения уровень NO в лейкоцитах больных с ХВЗЖПО заметно возрастал по сравнению с исходными значениями. При этом наблюдали следующую закономерность: чем выше была степень тяжести патологического процесса, тем хуже эффективность лечения. Аналогичные результаты были получены при

изучении НД: I, II и III ст. заболевания сопровождались увеличением НД на 21,3% ($p<0,05$), 97,7% и 206,8% ($p<0,001$) соответственно. Параллельно с этим происходило снижение скорости реакции НР, которая по сравнению с исходными данными уменьшилась на 27,4% ($p<0,01$), 28,9 ($p<0,01$) и 45,0% ($p<0,001$). При данном способе лечения отмечали высокую степень ЭИ, что вместе с нарушением фагоцитарной активности лейкоцитов может быть важной причиной развития рецидива заболевания, осложнений у женщин с вышеотмеченной патологией.

Во 2-ой группе больных с ХВЗВПО в выделенных лейкоцитах наблюдали схожую с 1-ой группой динамику изменений биохимических показателей: изменение экспрессии NO, активности НР и НД, показателей ЭИ - МСМ₂₅₄ и ЛИИ. По сравнению с исходными значениями в лейкоцитах женщин 2-ой группы концентрация NO при I, II и III ст. заболевания увеличилась на 13,1% ($p>0,05$), 42,6% и 100% ($p<0,001$), НД - на 16,2% ($p<0,05$), 92,8% и 33,3% ($p<0,001$). Одновременно с этим отмечали выраженное снижение показателей ЭИ - МСМ₂₅₄ при I, II и III ст. - на 12,4% ($p>0,05$), 16,8% ($p<0,05$) и 27,8% ($p<0,01$), ЛИИ - на 57,1%, 65,3% и 74,3% ($p<0,001$) соответственно. Однако, следует выделить, что и после проведенной традиционной терапии ни один из исследуемых показателей NO-эргической системы и степени ЭИ не достигал уровня таковых значений контрольной группы, что указывает на необходимость включения в комплексное лечение больных антибиотиков широкого спектра действия.

У больных 3-ей группы при использовании у них абактала в сочетании с метронидазолом отмечались положительные сдвиги параметров NO-эргической системы в лейкоцитах, снижение степени ЭИ в организме женщин независимо от стадии заболевания. Так, например, по сравнению с исходными данными в лейкоцитах пациенток 3-ей группы с I, II и III ст. заболевания концентрация NO возрастала на 41,9%, 80,9% и 168,2% ($p<0,001$), НД - на 18,4% ($p<0,05$), 92,8% и 193,5% ($p<0,001$), активность НР снизилась на 28,7% ($p<0,01$), 42,5% и 49,1% ($p<0,001$). Одновременно с этим происходило понижение индексных значений степени ЭИ - МСМ₂₅₄ - на 28,9% ($p<0,01$), 26,3% ($p<0,01$) и 42,2% ($p<0,001$), ЛИИ - на 65,7%, 75,5% и 82,7% ($p<0,001$) соответственно.

Проведенные исследования показали, что по степени эффективности позитивного действия на процессы восстановления нарушенной активности NO-эргической системы в лейкоцитах, выделенных у женщин с ХВЗВПО, независимо от стадии заболевания, снижения степени ЭИ, группы распределились следующим образом: 3 гр.> 1гр.>2 гр.

Несмотря на высокий эффект, направленный на улучшение показателей NO-эргической системы в лейкоцитах и снижение ЭИ в организме женщин 3-ей группы со II и III ст. заболевания, в данной группе все ещё сохраняется достаточно высокий уровень нарушения этих процессов, что, несомненно, обуславливает дальнейший поиск новых подходов к решению данной проблемы.

Таким образом, на основании проведенных исследований можно заключить, что при ХВЗЖПО в лейкоцитах больных с увеличением стадии заболевания отмечается нарушение обмена NO, угнетение активности НД, повышение скорости ферментативной реакции НР. Важным фактором в снижении экспрессии NO является угнетение активности НД, интенсификация скорости ферментативной реакции НР. Нарушение NO-эргической системы в лейкоцитах связано с возрастанием степени ЭИ у больных с данной патологией. Включение абактала и метронидазола в схему комплексного лечения с одновременным использованием метода ДМТМТ у больных с ХВЗЖПО обладало большей эффективностью по сравнению с другими методами лечения, так как при этом улучшались как биохимические параметры, так и результаты лечения больных.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МАЛОИНВАЗИВНЫХ МЕТОДОВ У БОЛЬНЫХ С МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХОЙ

Ш.Т. Ураков, Т.Я. Мусоев, Э.С. Саъдиев, А.А. Расулов

Бухарский государственный медицинский институт, г. Бухара

Несмотря на широкое распространение лучевых методов диагностики заболеваний органов брюшной полости, эндоскопическая ретроградная панкреатохолангиография (ЭРПХГ) продолжает оставаться наиболее достоверным методом диагностики причин механической желтухи, а эндоскопическая папиллосфинктеротомия (ЭПСТ) – оптимальным малоинвазивным пособием при этой патологии.

Цель исследования: изучить результаты ЭРПХГ и ЭПСТ у больных механической желтухой.

Материал и методы

Проведена ЭРПХГ у 102 больных. Исследования проводились в случаях, трудных для клинической диагностики заболевания. При установлении показаний к рассечению сфинктера большого дуоденального соска (БДС) у 42 больного была выполнена ЭПСТ, у 38 (37%) – супрапапиллярная холедоходуоденостомия (СПХДС). Мужчин было 56 (55%), женщин – 46 (45%). По возрасту больные распределились следующим образом: 6 (5,9%) больных были младше 30 лет, 15 (14,7%) – в возрасте 31–40 лет, 20 (19,6%) – 41–50 лет, 38 (37,2%) – 51–60 лет, 20 (19,6%) – 61–70 лет, 3 (3%) – 71–80 лет.

Содержание билирубина в плазме крови не было повышено только у 6 (5,9%) больных. У 26 (25,5%) больных уровень билирубина составлял 21–60 ммоль/л, у 35 (34,3%) – 61–100 ммоль/л, у 25 (24,5%) – 101–160 ммоль/л, у 8 (7,9%) – 161–220 ммоль/л и у 2 (1,9%) содержание билирубина превышало 220 ммоль/л.

У большинства больных тяжесть состояния усугублялась наличием сопутствующих заболеваний: гипертоническая болезнь – у 30 (29,4%), ишемическая болезнь сердца – у 45 (44,1%), хроническая сердечная недостаточность – у 10 (9,8%), сахарный диабет – у 4 (3,9%), инфаркт миокарда – у 3 (3%), язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки – у 10 (9,8%) и др.

При ультразвуковом исследовании (УЗИ) желчных путей камни в холедохе были обнаружены у 42 (41,2%) больного, у 39 (38,2%) больных холедохолитиаз не подтвержден и у 21 (20,6%) больного на основании УЗИ достоверно установить наличие или отсутствие конкрементов в холедохе не удалось. У большинства больных при УЗИ холедох был расширен.

Подготовка больных к ЭРПХГ включала общепринятую спазмолитическую и дезинтоксикационную терапию. Непосредственно перед исследованием проводилась премедикация с использованием атропина, промедола, супрастина или димедрола.

Результаты и обсуждение

Диаметр БДС обычно не превышал 5 мм, а её форма чаще была полушаровидной. При дуоденоскопии мы различали несколько разновидностей форм устья БДС. У большинства больных – 71 (69,6%) – оно было округлой формы, у 19 (18,6%) – щелевидное, у 6 (5,9%) – ворсинчатое, у 6 (5,9%) – имело другую форму.

Нетипичная локализация отверстия БДС обнаружена у 13 (12,7%) больных. У 8 из них отверстие соска располагалось в парапапиллярном дивертикуле двенадцатиперстной кишки и у 3 больных – в крае дивертикула. Не удалось канюлировать протоки у 5 (4,9%) больных, главным

образом, при атипичном расположении БДС. У 6 (5,9%) больных исследование ограничено вирсунгографией.

После введения катетера в отверстие БДС осуществляли пробное введение 1–2 мл водорастворимого контраста 30–50% концентрации (верографина, урографина и др.). При нахождении конца катетера в протоковой системе, подтвержденной на изображении контрастированного холедоха на мониторе, продвигали его в направлении печени. Глубина введения катетера в желчные протоки была весьма вариабельной и составляла от 1 до 12 см в зависимости от характера патологического процесса, анатомических взаимоотношений протоковой системы, двенадцатиперстной кишки, БДС и других факторов. Желчные протоки и желчный пузырь контрастировались введением 20–30 мл водорастворимого контраста с визуальным контролем его распространения по желчным путям на мониторе. После заполнения протоковой системы и желчного пузыря контрастным веществом производили от 1 до 3х рентгеновских снимков. После рентгенографии протоки промывались 8% раствором Декасана и 0,5% раствором новокаина. По показаниям в просвет холедоха вводился раствор антибиотика.

После проведения ЭРПХГ диагноз устанавливали на основании эндоскопических признаков заболевания, результатов канюляции БДС и продвижения катетера по желчным протокам, характера распространения контраста по протокам на экране монитора и при рентгенографии.

По данным ЭРПХГ, диаметр холедоха у 20 (19,6%) больных составлял менее 7 мм, у 25 (24,5%) больных был от 7 до 10 мм, у 45 (44,1%) больных – 11–20 мм, у 12 (11,8%) – 21–30 мм.

По результатам ЭРПХГ были диагностированы следующие причины желтухи. У 42 (41,3%) больного обнаружены камни в холедохе, у 11 (10,8%) больного - микрохоледохолитиаз, у 5 (4,9%) больных – опухоли холедоха, у 4 (3,9%) больных – аденома БДС и у 13 (12,7%) больных – опухоль поджелудочной железы и у 2 (1,9%) – прорвавшийся эхинококк (хитиновая оболочка) – в просвете холедоха. У 25 (24,5%) больных при ЭРПХГ был исключен механический характер желтухи.

ЭПСТ у 42 больного выполнялась как канюлляционным, так и неканюлляционным способами. Неканюлляционный способ чаще применялся при расположении устья холедоха в парапапиллярном дивертикуле или в области его края.

После ЭПСТ и СПХДС во время эндоскопического исследования конкременты из желчных протоков были извлечены у 35 больных, у 5 больных камней в протоках не было обнаружено. У 2 больных попытка экстракции камней из холедоха оказалась безуспешной. Причиной, не позволившими удалить камни из холедоха во время эндоскопии, были большие размеры конкрементов.

Осложнения после ЭРПХГ и ЭПСТ были отмечены у 4 (3,9%) больных. Кровотечение из папиллотомного разреза возникло у 2 (1,9%) больных, у всех больных оно было окончательно остановлено во время дуоденоскопии с помощью консервативного лечения, включая эндоскопический гемостаз. Острый панкреатит развился у 1 больного (1%), и папиллит – у 1 (1%).

В последующем 15 (14,7%) пациентов были оперированы. Больным были выполнены холецистэктомия 14 (13,7%), которая сочеталась с холедохотомией, удалением конкрементов из холедоха и различными вариантами дренирования желчных протоков и 1 (1%) больной оперирован по поводу острого панкреатита.

Таким образом, наш опыт проведения ЭРПХГ и ЭПСТ подтверждает их высокую информативность и терапевтическую эффективность. ЭРПХГ и УЗИ при холедохолитиазе позволяют в большинстве случаев установить причину желтухи, размеры, количество

конкрементов и диаметр холедоха. Информативность ЭРПХГ при холедохолитиазе выше, чем УЗИ. При наличии конкрементов в холедохе ЭРПХГ должна завершаться ЭПСТ с извлечением камней из желчных протоков. При этом необходимо отметить возможность возникновения тяжелых осложнений при проведении ЭРПХГ и ЭПСТ. Выполнение этих исследований возможно при наличии современного эндоскопического оснащения, адекватного анестезиологического пособия и высококвалифицированных врачей-эндоскопистов.

ПРОНИЦАЕМОСТЬ МЕМБРАНЫ И АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ КЛЕТОК *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ПРИ ДЕЙСТВИИ ФУРАНОНОВ И АЦИЛИРОВАННОГО ГОМОСЕРИНАКТОНА

Н.В. Белоногова, Е.С. Крылова, А.Б. Маргулис

ФГАУО ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань

Золотистый стафилококк часто входит в состав нормальной микрофлоры человека. Подавляющее число стафилококковых инфекций носит эндогенный характер, связанный с активацией аутомикрофлоры. Этот факт подчеркивает безусловную важность исследований, связанных с возможностью направленной регуляции интенсивности жизнедеятельности такого рода бактерий.

Активация аутомикрофлоры может происходить вследствие ослабления иммунитета, а также при различных стрессовых воздействиях окружающей среды. Таким образом, важным аспектом в исследовании физиологии золотистого стафилококка является изучение его реакций на различные стрессоры.

Ранее нами было показано влияние различных биологических, химических и физических стрессоров на клетки *S.aureus*. В качестве биологических стрессоров были выбраны ацилированные гомосеринактоны (АГЛ), химических – синтезированные фураноны и их производные, физических – тепловой шок и рентгеновское облучение. Было установлено, что каждый вид стрессоров вызывает свои реакции у стафилококка: АГЛ снижает вирулентность, фураноны снижают способность к колониеобразованию и изменяют морфологию колоний, рентгеновское облучение индуцирует синтез АГЛ. Общим для всех этих стрессоров является изменение у стафилококка той или иной ферментативной активности. Все перечисленные эффекты можно рассматривать как промежуточные этапы перехода клеток стафилококка в состояние гипометаболизма, что, в свою очередь, предположительно связано с изменением фазового состояния клеточной мембраны.

В связи с этим целью настоящей работы явилось оценить изменения состояния мембраны *Staphylococcus aureus* при действии стрессоров различной природы.

В ходе работы решались следующие задачи:

1. Оценить влияние стрессоров химического и биологического происхождения на чувствительность *Staphylococcus aureus* к различным антибиотикам.
2. Охарактеризовать изменение микровязкости мембраны *Staphylococcus aureus* при действии стрессоров.

Ацилированные лактоны гомосерина являются сигнальными молекулами плотностно-зависимых процессов у грамотрицательных бактерий. По данным литературы грамположительные бактерии, в частности золотистый стафилококк, способны реагировать на экзогенный

гомосеринлактон. В связи с этим в качестве условно биологического стрессора был выбран ацилированный гомосеринлактон.

Одним из новых направлений в регуляции кворум-эффектов у микроорганизмов является использование искусственно синтезированных химических агентов – фуранонов. Мы в своей работе использовали галогенированные фураноны. По своей химической природе они являются аналогами гомосеринлактонов, способными регулировать плотностно-зависимые процессы у бактерий.

В работе применялись ацилированные гомосеринлактоны: N-бутаноил-DL-гомосеринлактон, N-гексаноил-DL-гомосеринлактон, N-октаноил-DL-гомосеринлактон в концентрации 100 нг/мл и галогенированные фураноны: 5-гидрокси-4-(4-метилфенилсульфонил)-3-хлор-2(5H)-фуранон (фуранон 1), 5-(4-метилфенилсульфонил)-3,4-дихлор-2(5H)-фуранон (фуранон 2), 7-гидрокси-2,3-дигидро-[1,4]дитиино[2,3-с]-5(7H)-фуранона-4-оксид (фуранон 3) в концентрациях 0.1, 1, 10, 20 мкг/мл.

Ранее нами было показано снижение лецитиназной активности стафилококка при действии фуранонов при совместном действии с тепловым шоком 45°C, чего не наблюдали для гомосеринлактонов. Кроме того, действие фуранонов приводило к появлению новых морфотипов колоний и снижало способность к колониеобразованию при инкубировании культуры стафилококка в жидкой среде с фураноном.

Далее нами были проведены эксперименты по влиянию ацилгомосеринлактонов и фуранонов на чувствительность стафилококка к антибиотикам: ванкомицину, гентамицину и ципрофлоксацину. Было показано, что предобработка бутаноилгомосеринлактоном увеличивает чувствительность культуры стафилококка к ванкомицину. При обработке гомосеринлактонами стафилококк приобретает промежуточную устойчивость к гентамицину, в то время как в контрольном варианте без обработки стафилококк к гентамицину устойчив. При действии фуранона 2 в концентрациях 10 и 20 мкг/мл чувствительность стафилококка к гентамицину достоверно увеличивается.

Также было исследовано влияние гомосеринлактонов и фуранонов на микровязкость мембраны клеток стафилококка. Мы определили коэффициент эксимеризации пирена F, величина которого обратно пропорциональна микровязкости мембраны. Было показано, что фуранон 2 в концентрациях 10 и 20 мкг/мл увеличивает микровязкость мембраны стафилококка. Гексаноилгомосеринлактон и октаноилгомосеринлактон также увеличивают микровязкость мембраны.

Снижение коэффициента эксимеризации пирена фуранонами 1 и 2 свидетельствует об их способности к структурированию мембраны стафилококка, т.е. к увеличению в мембране доли доменов, находящихся в упорядоченном гель-состоянии и, как следствие, наблюдается увеличение микровязкости этих доменов по сравнению с жидкокристаллическими доменами мембраны.

Важно отметить, что однонаправленное снижение текучести мембраны и способности к колониеобразованию является индикатором перехода клетки в состояние гипометаболизма.

Увеличение чувствительности к гентамицину стафилококка, предварительно инкубированного в присутствии фуранонов (или гомосеринлактонов), свидетельствует об аддитивности антимикробного действия исследуемых соединений и антибиотика.

Эффективность аминокликозидов зависит от эффективности проникновения антибиотиков этой группы в клетку, которая является многоэтапным энергозависимым процессом. В работах Антонова с соавторами показано, что при фазовых переходах из гель- в жидкокристаллическое состояние и обратно в липидном бислое образуются сквозные каналы с радиусом 1-3 нм, по

которым через мембрану могут переноситься ионы и низкомолекулярные вещества. Вероятно, это обстоятельство существенно облегчает проникновение антибиотика в клетку, не требуя при этом энергетических затрат. Однако нельзя исключить, что молекулярная масса и особенности физико-химических свойств веществ могут существенно влиять на их проникновение в клетку через такие каналы. Так, например, в нашем случае предварительная инкубация клеток с гомосеринлактонами и фуранонами не оказала существенного влияния на антимикробную активность ванкомицина и ципрофлоксацина.

ОПАСНОСТЬ ИНФИЦИРОВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА ПРИ КОНТАКТЕ С ДИКИМИ И ЭКЗОТИЧЕСКИМИ ЖИВОТНЫМИ

Р.Я. Гильмутдинов

ФГБОУ ВПО «Казанская государственная
академия ветеринарной медицины
имени Н.Э.Баумана», г. Казань

Человека, как биологический вид, и животных связывает общность свыше 300 возбудителей инфекционных заболеваний, причем неодамашенные виды вовлечены в эпидемиологию большинства зоонозов. Эпизоотия среди домашних птиц и млекопитающих, часто предшествующая возникновению эпидемической ситуации, в свою очередь развивается после таковой среди диких животных. События с атипичной пневмонией свидетельствуют о связи возникновения патогенных для людей рекомбинантов/ревертантов именно с дикими видами. Не исключен подобный сценарий и для полипатогенного вируса гриппа типа А. Потенциально значимые источники зоонозов - копытные, являющиеся хозяевами более 250 видов человеческих патогенов. Существенными источниками зоонозов являются грызуны, которые обычно являются ключевыми хозяевами. Общие для людей и диких животных микробные патогены, относительно имеющихся у человека, составляют для хищных млекопитающих – 43 %, грызунов – 23 %, приматов – 13 %, морских млекопитающих – 5 %, летучих мышей – 2 % и птиц – 10 %. Значительную эпизоотическую роль в качестве переносчиков и хранителей возбудителей болезней человека играют рептилии. Так, риск заражения при содержании черепах в неволе составляет 2 %. Опасными для человека вирусами восточного, западного и венесуэльского энцефалита лошадей, энцефалита Сент-Луи, калифорнийского энцефалита, энцефаломиокардита, а также возбудителями сальмонеллеза, листериоза, лептоспироза, бруцеллеза, туляремии и болезни Лайма могут быть инфицированы еноты-полоскуны. Большинство из 60 известных вирусов, встречающихся у летучих мышей имеют потенциальное значение в возникновении эмерджентных и реэмерджентных инфекций у человека. Существует гипотеза о периодическом инфицировании людей преодолевающими межвидовой барьер вирусами океанических животных, рассматриваемыми в качестве природного резервуара инфекции. Рота- и паравирусы, изолированные от морских львов и тюленей, могут вызывать у людей гастроэнтерит, а у детей – диарею. Не прекращается дискуссия о потенциальной опасности для человека ортопоксвирусов.. Случаи оспы обезьян у людей от шимпанзе, луговых собачек и других животных-грызунов отмечаются в различных странах, летальность составляет 17 %.

От обезьян можно заразиться также герпесвирусной болезнью В обезьян, Киассанурской лесной болезнью, геморрагическими лихорадками Эбола и Марбург. и др. Для человека вирус

Эбола опасен в первую очередь при контакте с инфицированными шимпанзе и гориллами, а также дукерами и дикобразами.

Как правило, инфицирование людей герпесвирусом В происходит при прямом или косвенном контакте (с лабораторными макаками), через укусы обезьян, однако описан случай, когда оно было вызвано капельным путем. Ситуацию усложняет и факт, что инфекция обезьян протекает асимптоматически, либо имеют место незначительные повреждения в слизистой ротовой полости. Императивно предполагается невозможность содержания макаков в качестве животных-компаньонов.

Описаны вспышки заболевания людей гепатитами в результате контакта с больными шимпанзе, хотя доказательства существования вирусов гепатита обезьян на сегодня отсутствуют. Опасен для человека и вирус инфекционного гепатита плотоядных. У людей встречается, хотя и редко, высоколетальная церкопитековая геморрагическая лихорадка.

Папилломавирусы животных, являясь видоспецифическими патогенами, не заражают людей. Тем не менее, учитывая возможность трансмиссии вирусов между таксономически близкими видами, отмечается необходимость соблюдения мер предосторожности сотрудниками, контактирующими с нечеловекообразными обезьянами.

В 1997 году в Гонконге в результате вспышки птичьего гриппа H5N1, который считался ранее непатогенным для людей, погибло 3 человека и с этого периода данное заболевание у людей наблюдалось во многих странах (Steensels M. et al., 2006 и др.). Повышенное внимание исследователей к птичьему гриппу связано с его высокой летальностью, достигающей 72 %, тогда как для оспы эта цифра не превышает 30, а для SARS – 10 %. Выявление вирусов гриппа А не только у перелетных, но и оседлых видов диких птиц, в частности, принадлежащих к отряду воробьиных, требует разработки новых организационных мероприятий по профилактике заболевания. Считается, что мясо и яйца заболевших птиц вируса не содержат, и люди заражаются, вероятно, через фекалии.

Непосредственная роль в возникновении гриппа у людей отводится также береговому тюленю. Описано несколько случаев такого инфицирования (Webster R. et al., 1981, 1992; Holl S., 1984; Бакулов И.А. и соавт., 1990; Nielsen O. et al., 2001 и др.).

Дикие животные, особенно плотоядные, являются значимым источником инфицирования человека вирусом бешенства. Природное бешенство распространено главным образом в Европе и Северной Америке – 77–84 %, в отличие от Юго-Восточной Азии и тропической Америки, где преобладают антропургические его эпизоотии. Известно о заболевании людей, укушенных ящерицей, а также через контакт с грифами и орлами (Kuwert E. et al., 1985). Зарегистрированы случаи гидрофобии, вызванных укусами сусликов, лисиц, шакалов, мангустов, обезьян, волков, реже - медведей, пантер, тигров, львов, гиен, генетт, оленей, верблюдов, крыс, белок, обыкновенных игрунок, обезьян, летучих мышей.

Люди чувствительны к вирусу Яба и заражаются при контакте с внешне здоровыми обезьянами или инфицированным материалом. На местах укусов, царапин и других травм, наносимых зараженными обезьянами, через 5-7 суток появляются разрастания типа узелков диаметром до 2 см, относящиеся к доброкачественным, хотя в отдельных случаях наблюдаются тяжелые лихорадочные реакции с лимфоаденопатией.

Предполагается, что пандемия СПИДа, которым инфицировано на сегодня более 65 млн. человек в мире, берет начало от контакта человека с шимпанзе, а в качестве источника ВИЧ-2 рассматривается черный мангобей.

Омская геморрагическая лихорадка часто развивалась после контакта людей с ондатрами, в связи с чем болезнь даже получила название «ондатровой». Другим резервуаром инфекции является узкочерепная полевка.

Хламидиозом человек заражается в основном от содержащихся в неволе попугаевых, а именно от какаду, длиннохвостых попугаев, амазонов и ар. Однако известна масса случаев инфицирования от свободноживущих птиц, среди которых выделяют голубей, хищных и прибрежных птиц. В настоящее время известно более 125 видов птиц, способных служить источником заражения людей орнитозом (Сергиев В.П., 2007).

Описано множество случаев микоплазмоза людей вследствие контакта с морскими млекопитающими (Staby M., 2004 и др.). Это так называемый «тюлений, или китовый, палец» - “seal finger” – распространенное заболевание обусловленное *M.phocacerebrale* у людей после контакта с ластоногими. Характеризуется острой болью и разбуханием пальцев, различными выделениями. Известен также случай заражения этим патогеном биолога при обследовании ротовой полости обездвиженного белого медведя.

Имеются отдельные сообщения о заболевании людей бруцеллезом при частом контакте с дельфинами. Описан случай заражения сибирской язвой от бивней слона. Между тем, большинство ученых рассматривает человека в качестве «биологического тупика» для этой инфекции. Животные для людей не представляет особой опасности в качестве источника мелиоидоза, поскольку прямой передачи никогда не наблюдали и большинство исследователей отвергает такой путь передачи. Тем не менее, отдельные ученые не исключают возможности заражения людей от пресноводных экзотических аквариумных рыб.

Дикие животные, наряду с домашними, являются обычным источником инфицирования людей лептоспирозом. В качестве природного резервуара патогенных для человека сероваров рассматриваются листовая лягушка и жаба-ага. Лица, контактирующие со свободноживущими и содержащимися в неволе дикими млекопитающими, могут через мочу последних инфицироваться лептоспирами. Причиной лептоспироза человека могут быть ондатры, поссумы, медведи, летяговые, тюлени, морские львы и дельфины. *Pasteurella dogmatis* изредка изолируются из ран людей, нанесенных им львами, тиграми, пантерами, опоссумами, кроликами и кабанами. Кроме того, из раны человека, нанесенной львом, выделен штамм *P.leonis*, генотипически схожий с *P.multocida*. От девочки раненой тигром изолирован штамм, названный *P.multocida subsp. tigris*. Воспаление сухожильного влагалища полимикробной этиологии (*Pasteurella multocida* и грамотрицательные бациллы) описано у пожилого мужчины после ранения тигром.

C.Capitini et al. (2002) сообщили о раневой инфекции, вызванной *Neisseria weaveri* у ребенка, укушенного тигром. От клинически нормальных черепах изолируются *Edwardsiella* и *Arizona spp.*, причем попытки элиминировать их из рептилий и их яиц оказались безуспешными. Также причиной заболевания человека могут быть поссумы - *Giardia*, игуаны – *Serrati marcescens*, черепахи и другие рептилии - *Edwardsiella tard*. Зарегистрированы случаи заражения человека шигеллами от инфицированных обезьян. Считается, что для людей патогенны 2 вида кампилобактерий: *C.jejuni* и *C.coli*, хотя сообщалось об острой диарее у человека, вызванной изолированный от черепахи *C.fetus*.

В последние годы отмечается значительный рост сальмонеллеза во всех странах мира и особенно высока он у детей и лиц с ослабленным иммунитетом. При этом экзотические и дикие животные являются достаточно значимым источником заражения. Сообщалось о редких случаях инфицирования через рыб, в том числе аквариумных и возможности заражения от амфибий. Часто сальмонеллезная инфекция сопровождает содержание рептилий в домашних условиях.

Практически все из 200 типов сальмонелл, изолированных от рептилий, представляют опасность для человека. Растет частота изоляции от людей редких серотипов сальмонелл, таких как *marina*, *stanley*, *roopa* и *chameleon*, характерных для рептилий. Описаны случаи заражения в США и в других странах, причем существенная роль отводится черепахам. Дикие птицы не столь значимы в эпидемиологии этой инфекции у людей, хотя и такие факты известны. Из млекопитающих причиной заражения могут быть обыкновенные и белобрюхие ежи, кролики, обезьяны, опоссумы, еноты, кенгуру, афалины, белки–летяги и карликовые сумчатые летяги.

Человека могут инфицировать микобактерии *M.marinum*, *M.fortuitum*, *M.platypolcitis* и *M.chelonae* рыб, в том числе аквариумных. Подтверждено заражение *M.marinum* от ежей, афалин и ламантинов. Отмечается опасность туберкулеза попугаев, нечеловекообразных обезьян и азиатских слонов, однако подтвержденных случаев передачи возбудителя зарегистрировано немного. Хотя этиологическим агентом туберкулеза человека в основном является *M.tuberculosis*, до 5-10 % случаев заболевания может быть обусловлено *M.bovis*. Сообщалось об инфицировании им от морских млекопитающих (тюленей и др.), оленей, лосей, поссумов. Потенциально опасны для человека и *M.kansasii*, *M.scrofulaceum*, выделяемые от обезьян. Микобактерии комплекса *M.tuberculosis*, выделяемые от больных морских млекопитающих, изолировались от людей с легочным туберкулезом. Броненосцы и приматы рассматриваются как природный резервуар возбудителя лепры, но доказательства их роли в эпидемиологии человека отсутствуют.

М.Migronne et al. (1988) утверждает об отсутствии у диких животных патогенных для человека штаммов *Y.enterocolitica*, хотя некоторые серотипы, изолированные от людей, также выделялись от здоровых диких животных. Выдвинуто положение о возможности заражения человека псевдотуберкулезом при контакте с животными, не подкрепленное, однако, какими-либо убедительными доказательствами. Потенциально возможно заражение людей *Y.pestis* от ежей.

Сообщалось о заболевании людей рожей от тюленей, обыкновенных гринд, морских львов и дельфинов. Общеизвестна гипотеза, согласно которой современный сифилис происходит от полового спирохетоза южноамериканских лам и получен человеком в результате скотоложества. Человек имеет повышенную чувствительность к столбнячному токсину и причиной его заражения могут быть содержащиеся в неволе рыбы (относительно редко), рептилии, обезьяны. От людей изолирован также *Streptococcus iniae*, являющийся патогеном рыб и пресноводных дельфинов.

Вероятность инфицирования человека от диких животных значительно возрастает и в связи с активизацией международного экотуризма. Миллионы людей промышленно развитых стран практикуют «возврат к природе», принимая участие в охоте на птиц и зверей, содержании их в домашних условиях, использовании другой продукции дикой природы. При этом, как никогда, важно наличие определенных программ по мониторингу циркуляции инфекционных агентов в популяциях свободноживущих диких животных.

ОЦЕНКА АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ГИДРАЗОНОВ ДИМЕФОСФОНА ВК-500 И ВК-502 В СРАВНЕНИИ С ДИМЕФОСФОНОМ И ИЗОНИАЗИДОМ.

Л.Р. Кашанов, Р.С. Гараев, О.К. Поздеев, М.П. Шулаева, Б.И. Бузыкин, Д.А. Татаринов

ГБОУ ВПО «Казанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
г.Казань

Ранее установлено, что новые аналоги димефосфона, представляющие собой изоникотиноилгидразон (ВК-500) и никотиноилгидразон димефосфона (ВК502), обладают противотуберкулезной активностью *in vitro*. Димефосфон подавляет ряд штаммов микроорганизмов в концентрациях 1:10 – 1:1000 и проявляет противовоспалительную активность, что позволяет применять его для местного лечения инфекционно-воспалительных заболеваний. Изучение противомикробных свойств соединений ВК–500 и ВК–502, содержащих в молекуле фармакофоры с противотуберкулезной активностью, является целью настоящих исследований.

Методы. Антимикробная активность ВК–500, ВК–502 в сравнении с димефосфоном и изониазидом изучали *in vitro* на 5 видах микроорганизмов (*E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *St. aureus*, *C.albicans*, *S. paratyphi B*). Взвесь суточной культуры бактерий добавляли по 1 мл в пробирки, содержащие по 1 мл водные растворы изучаемых соединений, при этом конечное разведение испытуемых веществ составило 1:50, 1:100, 1:1000 и 1:10000. Через 2, 24 и 48 часов с помощью платиновой петли делали высевы в пробирки, содержащие по 5 мл питательной среды. Пробирки термостатировали при 37 °С и проводили наблюдение в течении 7 суток. Контролем служили посевы микробных культур, контактировавшие с аналогичным объемом дистиллированной воды. Индикатором антимикробной активности служило отсутствие роста в пробирке.

Результаты исследований показали, что все изучаемые соединения проявляют антимикотическую активность в отношении *C. albicans*, причем наибольшую активность проявил Изониазид: через 2 часа в разведении 1:50; через 24 часа в разведении 1: 100 и через 48 часов в разведении 1:1000). Остальные изучаемые соединения подавляли рост грибка лишь при 24–часовом контакте в разведении 1:50. В отношении *St. aureus* соединения в разведении 1:50 проявили одинаковую противомикробную активность при 48–часовом контакте. Димефосфон и Изониазид подавляли также рост *Ps. aeruginosa* при 48–часовой выдержке с культурой микроорганизма. Изониазид (1:100) проявил противомикробную активность в отношении *E. coli* при 48–часовом контакте. Димефосфон во всех сериях проявил наибольшую антимикробную активность, подавляя рост исследуемых тест–объектов в разведении 1: 1000.

Полученные данные вносят дополнения к фармакологическим свойствам ВК–500 и ВК–502, рассматриваемым как потенциальные противотуберкулезные средства.

ОЦЕНКА АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ ЛИСТЬЕВ *SALVIA OFFICINALIS* L.

А.С. Макарова, Л.Т. Мусина, Р.Ш. Хазиев, А.Н. Николаева

ГБОУ ВПО «Казанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
г. Казань

Листья шалфея лекарственного (*Salvia officinalis* L., сем. *Lamiaceae*) — популярное лекарственное средство, которое имеет долгую историю эффективного медицинского применения в европейской и отечественной медицине. Прежде всего, шалфеем известен своими противовоспалительными и антимикробными свойствами и часто применяется для лечения заболеваний полости рта и верхних дыхательных путей. В настоящее время, несмотря на то, что листья шалфея стандартизуются согласно ГФ XI по содержанию эфирного масла, основной группой соединений, отвечающих за антибактериальную активность, признаются дитерпеновые кислоты. Учитывая, что дитерпеновые кислоты являются гидрофобными соединениями, мы предположили, что они должны избирательно экстрагироваться неполярными растворителями типа гексана или петролейного эфира.

Целью нашей работы было получение извлечений из листьев шалфея лекарственного на основе целевой экстракции действующих веществ неполярными растворителями и оценка их антибактериальной активности.

Для целевой экстракции дитерпеновых кислот мы использовали петролейный эфир. Петролейный эфир является гидрофобным растворителем, позволяющим избирательно экстрагировать дитерпеновые кислоты. Использование такого рода растворителя позволяет минимизировать попадание сопутствующих веществ фенольной природы в извлечение. Для проверки перехода дитерпеновых кислот в петролейный эфир нами был записан УФ–спектр полученного извлечения. УФ–спектр имел основной максимум при 285 ± 3 нм и практически полностью повторял спектр карнозоловой кислоты, что подтвердило наше предположение об избирательной экстракции дитерпеновых кислот данным растворителем.

На дальнейшем этапе работы были определены условия исчерпывающей экстракции дитерпеновых кислот. В качестве изучаемых факторов были выбраны степень измельчения, модуль экстракции и продолжительность нагревания. Было определено, что исчерпывающая экстракция дитерпеновых кислот достигается при 30 минутном кипячении сырья с петролейным эфиром при соотношении сырья и экстрагента 1:30.

Для исследования антибактериальной активности были получены следующие препараты из листьев шалфея лекарственного: суммарное спиртовое извлечение, петролейный экстракт и спиртовое извлечение из жома, оставшегося после экстракции дитерпеновых кислот петролейным эфиром. В случае спиртовых извлечений использовалось предварительное смачивание сырья 1% раствором кислоты хлористоводородной для перевода солевых форм дитерпеновых кислот в форму кислот. Для проведения микробиологических испытаний в случае петролейного экстракта растворитель отгоняли под вакуумом и сухой остаток растворяли в эквивалентном количестве спирта – 100 мл. Оценку антибактериальной активности проводили по ФС 42–1348–91 «Раствор хлорофиллипта 1% спиртовой» методом двукратных серийных разведений в мясо-пептонном

бульоне (МПБ) (рН 7,0) с тест-микробом *Staphylococcus aureus* ATCC 6538–Р. Однако метод серийных разведений в МПБ не всегда позволял визуально определить наличие или отсутствие роста тест-микроба. Для устранения этого недостатка фармакопейной методики нами был разработан метод, где антибактериальную активность извлечений определяли, используя мясо-пептонный агар (МПА), на поверхность которого в чашках Петри методом репликаций из каждой пробирки делали пересев и инкубировали в термостате в течение 18–24 часов. Разведение извлечения, на котором отсутствовал рост тест-штамма характеризовало его антибактериальную активность. Каждый опыт проводился в трёх повторностях. Минимальные подавляющие концентрации (МПК) для суммарного спиртового извлечения, петролейного экстракта, спиртового извлечения из жома, оставшегося после экстракции дитерпеновых кислот петролейным эфиром, составили 1:64, 1:16, 1:32 соответственно.

Из полученных результатов видно, что антибактериальная активность петролейного экстракта в 8 раз ниже, чем у спиртового экстракта листьев шалфея, что свидетельствовало о наличии антибактериальной активности не только у дитерпеновых кислот, но и у фенольных соединений (предположительно гидроксикоричных кислот).

Таким образом, полученные результаты позволяют утверждать, что петролейный эфир избирательно извлекает дитерпеновые кислоты из листьев шалфея лекарственного. В тоже время, установлено, что вклад в антибактериальную активность листьев шалфея лекарственного помимо дитерпеновых кислот вносят и другие фенольные соединения (предположительно гидроксикоричные кислоты).

ВНУТРИВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ СТАФИЛОКОККОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ НОСИТЕЛЕЙ И ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

О.Е. Пунченко

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

Актуальность. Носители *Staphylococcus aureus* являются основным резервуаром и источником стафилококковой инфекции в госпитальной среде. Золотистый стафилококк, занесенный в стационар, может выживать на объектах окружающей среды в течение длительного времени. Это определяет стратегию противоэпидемических мероприятий: очень важно не допустить занос и распространение в больничной среде эпидемических штаммов. Отмечаемая в последнее время тенденция к распространению внебольничных штаммов *S. aureus* с атипичными свойствами в лечебных учреждениях свидетельствует о необходимости разработки новых стратегий инфекционного контроля.

Цель. Провести обследование студентов 2 курса лечебного факультета медицинского университета на носительство *S. aureus*, а также изучить свойства выделенных от носителей и с объектов окружающей среды золотистых стафилококков.

Материалы и методы. Забор материала из передних отделов носа осуществляли одним стерильным тампоном из обеих половин носа. Сбор материала из зева проводили с поверхности миндалин вторым стерильным тампоном. Посев на желточно-солевой агар (ЖСА) проводили тампоном, которым забирали биологический материал. Также обследовали объекты окружающей среды. Для этого с помощью стерильных тампонов брали смывы с различных объектов и сотовых

телефонов. Смывы с объектов окружающей среды помещали в пептонную воду 1%, которую затем подращивали в течение суток при 37 °С, а затем делали высеив на ЖСА. Для учета контаминации изначально стерильных медицинских халатов вырезали участки из разных областей и засеивали их методом отпечатков на плотные среды. Параллельно брали пробы воздуха в 4 точках на ЖСА с помощью импактора ПУ–1Б. Все засеянные чашки оставляли в термостате при 37 °С на 2 суток, после чего подсчитывали общее число выросших колоний и отдельно колоний различной морфологии. Для каждого выделенного и идентифицированного штамма *S. aureus* проводили внутривидовое типирование для изучения свойств. При этом у носителей учитывали только обсемененность, выражающуюся показателем 10^2 и более микробных клеток на тампон, так как она является показателем высокой контаминации, при которой происходит выделение микроорганизмов во внешнюю среду как при различных экспираторных актах, так и при спокойном дыхании.

Полученные результаты. Среди выросших на ЖСА подозрительных на золотистый стафилококк (пигмент, наличие лецитовителлазной активности) 37 штаммов от носителей были идентифицированы как *S. aureus* 33 штамма; с объектов окружающей среды 19 подозрительных штаммов – 16 отнесены к *S. aureus*; на восьми телефонах, что составляет 7,8%, выявлены *S. aureus*; из воздуха из 4 подозрительных штаммов только один был подтвержден как *S. aureus*. Принадлежность к золотистому стафилококку проверяли в тесте анаэробной ферментации маннита и с помощью хромогенной среды HiCrome MeReSa Agar Base, HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Индия. Также как *S. aureus* были идентифицированы колонии следующих типов: белые с лецитовителлазной активностью (4 штамма), непигментированные (21 штамм) и пигментированные (11 штаммов) без лецитовителлазной активности. Чаще золотистые стафилококки выделяли из передних отделов носа носителей, чем из зева. Из объектов окружающей среды самым массивным оказалась контаминация халатов – 2 КОЕ/см² в области груди и 1,2 КОЕ/см² в области рукава. Достоверно чаще золотистый стафилококк высевался с телефонов с кнопками. На сенсорных телефонах *S. aureus* не обнаружен. Так как золотистый стафилококк является обитателем носоглотки, зева и кожных покровов человека, поэтому присутствие его на объектах окружающей среды объясняется закономерным орально-капельным или контактным (руками) загрязнением.

У идентифицированных как *S. aureus* штаммов проверяли гемолитическую активность на кровяном агаре, протеолитическую активность на молочно-солевом агаре, а также чувствительность к поливалентному стафилококковому фагу производства Микроген. У 24,5% штаммов стафилококков от носителей, 100% – из воздуха, 4% – с объектов окружающей среды выявлена гемолитическая активность. Протеолитическая активность была характерна для 30,6% штаммов от человека и 50,5% штаммов из объектов окружающей среды.

Выводы.

1. Менее 40% штаммов золотистых стафилококков обладают типичными морфологическими и культуральными свойствами.
2. Носительство золотистого стафилококка составляет около 60% среди студентов 2 курса лечебного факультета. *S. aureus* выделялись также с объектов окружающей среды, сотовых телефонов, медицинских халатов и из воздуха учебного класса для практических занятий, что объясняется высоким процентом носителей золотистого стафилококка среди студентов.
3. Среди изученных штаммов 24,5% обладают выраженной гемолитической активностью, что свидетельствует об их патогенном потенциале.

4. Находки санитарно–показательных микроорганизмов, к которым относится *S. aureus*, свидетельствуют о вероятном присутствии патогенных микроорганизмов и позволяют отнести личные вещи к возможным факторам передачи ИСМП.

ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ РНКАЗЫ БИНАЗЫ И БЛЕОМИЦИНА НА КЛЕТКИ РАКА ЛЕГКИХ ЧЕЛОВЕКА A549

А.М. Макеева, Йесуф Адем Сирай, П.В. Зеленихин

ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г.Казань

Среди РНКаз различного происхождения обнаружен ряд ферментов с противоопухолевой активностью. Для РНКазы *Bacillus pumilus* (ранне – *B. intermedius*) биназы установлена избирательная цитотоксичность к клеткам, экспрессирующим онкогены *ras*, *kit*, AML-ETO. Для наиболее известной РНКазы с противоопухолевой активностью, онконазы (РНКазы леопардовой лягушки *Rana pipiens*), выявлено ингибирующее действие на экспрессию генов клеток злокачественной мезотелиомы легких. Монотерапия онконазой злокачественной мезотелиомы легких не принесла ожидаемых результатов, в связи с чем были инициированы ее клинические испытания в комплексе с антибиотиком доксорубицином. Взаимодействие РНКаз микроорганизмов с известными средствами противоопухолевой терапии не изучалось. Цель настоящей работы – выявление цитотоксического потенциала биназы в сочетании с блеомицином, гликопептидным антибиотиком, синтезируемым бактериями *Streptomyces verticillus*, по отношению к клеткам рака легкого человека A549.

В работе использована биназа, гуанилспецифичная РНКазы *Bacillus pumilus* 3-19 дикого типа (ЕС 3.1.27.3, молекулярная масса 12.3 кДа, 109 аминокислотных остатков, pI = 9.5), изолированная как гомогенный белок из культуральной жидкости рекомбинантного штамма *Escherichia coli* BL21, несущего плазмиду pGEMGX1/ent/Bi. Клеточная линия A549 была получена из Американской коллекции клеточных культур (Роквилл, США). Клетки культивировали на питательной среде RPMI 1640 (Sigma, США), содержащей 10% эмбриональной сыворотки телят, 2мМ глутамина и 100 ед./мл пенициллина и стрептомицина, при 37°C во влажной атмосфере с 5% CO₂. Апоптотические изменения клеток фиксировали с помощью проточного цитофлуориметра FACSCanto II (BD, США) с использованием красителя мероцианина-540. Статистическая обработка результатов, полученных из трехкратных повторностей каждого эксперимента, проводилась стандартными методами в программе Microsoft Excel 2010.

Установлено, что блеомицин обладает дозозависимым апоптоз-индуцирующим действием в концентрациях от 0,7 мкМ до 7мкМ отношении клеток карциномы легких человека линии A549. После 24 часов инкубирования с блеомицином (7мкМ) доля апоптотических клеток в популяции A549 возросла до 30%, после 72 часов – до 85%. Повышение содержания блеомицина в среде на порядок (до 70 мкМ) не привело к увеличению доли апоптотических клеток в популяции.

Как и ожидалось, биназа оказывала цитотоксическое действие на злокачественные клетки, сопоставимое с действием блеомицина: доля апоптотических клеток A549 после 24 ч культивирования с биназой в концентрации 4,15 мкМ и 24 мкМ составила 11% и 40%, соответственно, в то время как данный показатель для необработанных клеток не превышал 9%.

Оценка цитотоксичности комплекса биназы и блеомицина проведена нами в сочетаниях определенной концентрации одного компонента с возрастающей концентрацией другого. Число

клеток в апоптозе за 24 ч действия 0,1 мкМ и 7 мкМ блеомицина составило 15 и 25%, соответственно. При одновременном воздействии 0,1 мкМ блеомицина/4,15 мкМ биназы доля клеток в состоянии апоптоза составила 21%. Если использовали более высокую концентрацию биназы (0,1 мкМ блеомицина/25 мкМ биназы), то доля апоптотических клеток достигала 31%. Однако даже в этом случае уровень апоптоза был ниже, чем индуцированный только биназой: при обработке биназой в концентрации 25 мкМ апоптотическая часть популяции составила 40%. Таким образом, сочетание низкой малотоксичной концентрации блеомицина с биназой неэффективно. Сочетание низкой концентрации биназы (4,15 мкМ) с возрастающими концентрациями блеомицина (0, 0,1 и 7 мкМ) привело к переходу в апоптоз 11%, 22% и 27% клеток, соответственно. Апоптоз-индуцирующая активность биназы в присутствии возрастающих концентраций блеомицина усилилась, превысив, хотя и незначительно, как собственный уровень апоптогенной активности в данной концентрации (24%), так и собственно блеомицина в максимальной концентрации (24%). Отметим, что совместное воздействие максимальных концентраций исследуемых веществ было неэффективно, в то время как сочетание неапоптогенных концентраций привело к повышению доли апоптотических клеток до 22% по сравнению с индивидуальным действием блеомицина (15%) и биназы (11%). Полученные данные свидетельствуют, что биназа и блеомицин эффективны при сочетании в низких концентрациях.

Работа поддержана грантом РФФИ 2-04-01226а.

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ АНТИРАБИЧЕСКОЙ ВАКЦИНАЦИИ

А.В. Имангулова, Г.В. Скрябин, Л.Т.Мусина

ГБОУ ВПО «Казанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
г.Казань

Впервые вопросом профилактики бешенства занялся Луи Пастер. В процессе многократных пассажей через мозг кроликов уличного вируса бешенства, он получил фиксированный вирус, который использовал в качестве вакцины для профилактической иммунизации собак. 6 июля 1885 г. Л. Пастер впервые применил свою вакцину на мальчике Мейстере, пострадавшем от укуса бешеной собаки. Больной день за днем получил все 14 прививок, заключавшихся в простом уколе под кожу, и выздоровел. Удивительно, не смотря на то, что ни Пастеру, ни его современникам не удалось выделить вирус бешенства и описать его свойств, он разработал метод, позволивший изменить свойства возбудителя, и теперь он стал вызывать не заболевание, а невосприимчивость к нему. Пастеровскую живую вакцину готовили из спинного мозга кролика, забитого в агональном состоянии. Спинной мозг разрезали на несколько частей и подвешивали в закрытых флаконах, на дне которых содержался едкий калий, поглощающий влагу. Высушивание в этих условиях в течение 2-14 дней сопровождалось прогрессивно убывающим содержанием живого вируса до полной его инактивации. В дальнейшем процесс модифицировали, после 3-4 дней сушки мозг помещали в сосуды с 30 мл нейтрального глицерина и стерилизовали в автоклаве при $t\ 120^{\circ}\text{C}$. Эта модификация применялась в институте Л. Пастера с 1911г. по 1952г.

После смерти Л.Пастера стали спорить о методах совершенствования вакцины, о причинах осложнений после вакцинации и путях и предотвращения, а также о том, обязательно ли вакцина должна быть живой или она может быть инактивированной? В разных странах стали испытывать вакцины с различной степенью снижения вирулентности. Если Л.Пастер ослаблял вирус, высушивая мозговую ткань, то другие авторы считали, что имеются более надежные способы инактивации. В течение длительного времени наибольшее распространение получили методы, в которых частичная инактивация фиксированного вируса бешенства достигалась добавлением фенола. Так, появились химические вакцины. Вакцина Ферми (1907г.) была получена путем воздействия небольших концентраций фенола на мозговую суспензию, что позволяло инактивировать фиксированный вирус, не изменяя его иммуногенной активности. Вакцину готовили из гомогенизированной суспензии мозга овцы или кролика на физиологическом растворе, содержащем 1% фенола и выдерживали ее в термостате при $t\ 22^{\circ}\text{C}$ 24 часа. В конечном продукте содержалась 5% мозговая взвесь и 0,5% фенола. С 1939г. вакцину Ферми стали применять в Советском Союзе. Методы инактивации вируса в вакцине Ферми в разные годы меняли. В периоды наивысшей заболеваемости бешенством применяли слабоинактивированную вакцину, однако одновременно повышалось количество нейропаралитических осложнений, что вынуждало снова увеличить степень ослабления вируса, что приводило к снижению эффективности вакцины.

Разновидностью фенольной вакцины является и вакцину Семпла (1917г.). Ее готовили из 8% суспензии мозга кролика с 1% содержанием фенола, затем выдерживали в термостате 24 часа при $t\ 37^{\circ}\text{C}$. Конечный продукт содержал 4% мозгового вещества и 0,5% фенола.

Ремлеже и Хемпт (1919г.) предложили частично инактивированную вакцину. Головной мозг кролика сначала выдерживали в эфире в течение 90 ч., спинной мозг – 72 ч., а затем в фенолизированном глицерине в течении 20 дней, так появилась эфирная вакцина.

Учитывая большое количество осложнений в 1973г. ВОЗ рекомендовал всем странам отказаться от применения живых вакцин и перейти на полностью инактивированные.

Изготовление вакцин из мозга новорожденных животных было начато в СССР в 60-х годах. Считалось, что такие вакцины не содержат миелина, который и является причиной развития неврологических и нейропаралитических осложнений. Однако, уже в 1973г. от их применения пришлось отказаться, так как и их использование не исключало возможности развития поствакцинных осложнений.

И тогда, исследователи предложили новую идею: если нельзя получить безопасные препараты мозговых вакцин, то нужно попытаться культивировать фиксированный вирус в других тканях, которые не содержат миелина. Идея получила подтверждение после того, как был доказан факт размножения фиксированного вируса в тканях утиных и куриных зародышей. Эмбриональную вакцину готовили из 33% суспензии ткани утиного эмбриона, зараженного в желточный мешок. Копровский и Кокс в (1948г.) получили новый вакцинный штамм «Флюра», фиксированный на однодневных утятах и адаптированный на тканях куриного эмбриона. Вакцина на его основе дала меньшее количество паралитических осложнений, но вызывала другие осложнения и ее эффективность была меньше.

Новые перспективы в решении проблемы создания безопасной и эффективной антирабической вакцины появились в связи с успехами в культивировании клеток и тканей вне организма. Было доказано, что лучше всего фиксированный вирус бешенства накапливается в культурах клеток почек сирийских хомячков, куриного эмбриона, а также в диплоидных клетках человека. Это позволило, во-первых, культивировать фиксированный вирус в клетках, не

способных вызвать паралитические осложнения, а также получить вирус свободный от балластной мозговой ткани. Во-вторых, накопить вакцинный вирус не только в очищенном виде, но и в высокой концентрации. Фенье (1960г.) путем чередующихся пассажей на белых мышах и культуре клеток почки сирийского хомяка адаптировал к этой культуре полученный им вариант фиксированного вируса – штамм «Сад». В последующем данный штамм был адаптирован к культуре клеток почки свиньи, получив название штамм «Эра». Вторым вариантом штамма «Сад» является штамм «Внуково-32», который был получен в результате проведения дополнительных пассажей первичной культуры клеток почки сирийского хомяка при $t\ 32^{\circ}\text{C}$.

Опыты по выращиванию фиксированного вируса бешенства в культуре клеток были начаты в нашей стране в 1963г. в НИИ полиомиелита и вирусных энцефалитов, где была разработана технология получения очищенной концентрированной антирабической вакцины. Курс прививок данной вакцины был сокращен до 1-4 инъекций, тогда как при использовании вакцины Ферми требовался 15-27 курс лечения. В 1970-1973 гг. новая вакцина были испытана на 10000 человек.

В настоящее время применяется несколько антирабических вакцин. Первая представляет собой культуральную концентрированную очищенную инактивированную вакцину. В ее основе вакцинный вирус бешенства штамм «Внуково-32», инактивированный УФ лучами и формалином, концентрированный методом ультрафильтрации с последующей очисткой методом гельхроматографии. Растворенную вакцину вводят внутримышечно в дельтовидную мышцу плеча; детям – в верхнюю часть переднебоковой поверхности бедра. Вакцина «Рабипур» – инактивированная очищенная вакцина для постэкспозиционной и профилактической вакцинации против бешенства, содержит инактивированный вирус бешенства штамм «Flury LEP» выращенный на культуре куриных фибробластов. И, наконец, «Рабивак-внуково-32» - вакцина антирабическая культуральная инактивированная для иммунизации человека.

Изучив разнообразие антирабических вакцин, различающихся по виду, составу, специфичности, иммуногенности, от времен Луи Пастера до нашего времени, оценив их достоинства и недостатки, можно сделать вывод, что на сегодняшний день наиболее совершенной формой антирабической вакцины является использование убитого вируса освобожденного от посторонних белков. От исходной вакцины Луи Пастера при этом осталось главное - идея о возможности предотвращения заболевания введением измененного возбудителя бешенства.

ВНУТРИБОЛЬНИЧНАЯ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННАЯ ИНФЕКЦИЯ, ОБУСЛОВЛЕННАЯ СИНЕГНОЙНОЙ ПАЛОЧКОЙ

М.В. Кириллова, Л.Т. Мусина

ГБОУ ВПО «Казанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
г. Казань

Внутрибольничные инфекции – глобальная проблема здравоохранения. ВБИ поражают более 7 миллионов человек в год: 1,7 миллиона - в США и 5 миллионов в Европе. Каждый год от их последствий умирают в Европе – 50 000, а в США около 100 000 человек, составляя четвертую по частоте причину летальности после сердечно-сосудистых, злокачественных заболеваний и инсультов. Только по официальным данным внутрибольничные инфекции в РФ регистрируются ежегодно у 40–60 тыс. человек. Предполагается, что реальная их частота значительно выше. Так,

по результатам ретроспективного исследования Центрального НИИ эпидемиологии, число внутрибольничных инфекций в России ежегодно достигает 2 – 2,5 млн. (поражая 1,5% населения), а экономический ущерб от них составляет более 5 млрд. рублей. В 2013 год в РФ зарегистрировано 25326 случаев внутрибольничных инфекций, из них 31,8 % случаев – в хирургических стационарах, причем 24,4 % случаев пришлось на послеоперационные инфекции.

Нами проведено эпидемиологическое и микробиологическое расследование случая послеоперационного гнойного осложнения раны. Больной С., 63-х лет, поступил в приемное отделение стационара города Х., с диагнозом: острая кишечная непроходимость. Больному была проведена лапаротомия и сигмостомия. В послеоперационном периоде возникло осложнение: нагноение послеоперационной раны. На момент обследования пациент находился в состоянии средней тяжести, температура 38,5⁰С, при осмотре раны отмечались все признаки воспаления. Материал для бактериологического исследования был направлен в лабораторию. Посев произведен на питательные агары: 5% кровяной, уриселект, Эндо, желточно-солевой (ЖСА). На 5% кровяном агаре после суточного культивирования наблюдали рост однотипных серых влажных крупных колоний с зоной гемолиза. На агаре Эндо регистрировали рост лактозонегативных, влажных, крупных колоний, на уриселект агаре – рост желтовато-серых влажных колоний. При открытии чашек с посевами ощущался выраженный земляничный запах. Степень обсеменения составила 10⁸ КОЕ/мл. На ЖСА – роста микроорганизмов не наблюдали. При микроскопии препаратов, приготовленных из изолированных колоний, в мазках обнаружены грамтрицательные палочки. Тест на оксидазу положительный. Биохимическая идентификация и определение чувствительности к антибиотикам выделенных культур проводилась с помощью автоматического бактериологического анализатора WalkAway, с использованием панели NBPC 44. На следующий день был получен результат: выделена культура *Pseudomonas aeruginosae*. Исследуемый штамм оказался одновременно устойчив к 5-ти препаратам – амикацину, азтреонаму, цефтазидиму, цефепиму, гентамицину, в то же время был чувствителен к – ципрофлоксацину, имипенему, левофлоксацину, меропенему, пиперациллин\тазобактаму.

Для расшифровки случая внутрибольничной инфекции, установления возможных путей передачи инфекции, нами были взяты смывы на условно-патогенные микроорганизмы в хирургическом отделении данного стационара, согласно инструкции. На следующий день, в пробе с перевязочного столика из гнойной перевязочной, наблюдали рост микроорганизмов в виде диффузного помутнения. Для выделения чистой культуры был произведен пересев на плотные питательные среды: 5% кровяной агар, ЖСА, Эндо. Идентификация выделенных микроорганизмов проводилась аналогично исследованию материала отделяемого гнойной раны. Полученные результаты выявили наличие в объекте окружающей среды *P.aeruginosae*, биотипа 42063736.

Таким образом, из гнойной послеоперационной раны больного и с объекта окружающей среды в больнице, был выделен один и тот же штамм возбудителя синегнойной инфекции, что указывает на внутрибольничное заражение, произошедшее во время медицинских манипуляций. Выделенный штамм *P.aeruginosae* можно отнести к госпитальным штаммам, по характеристике множественной одновременной устойчивости к 5-ми антибиотикам. По результатам проведенного эпидемиологического расследования была проведена внеочередная генеральная уборка в хирургическом отделении, с последующим взятием смывов с объектов окружающей среды на условно-патогенную микрофлору. Повторное исследование дало отрицательные результаты.

BACILLUS THURINGIENSIS VAR. SUBTOXICUS B-388 В СОВРЕМЕННОЙ КЛАССИФИКАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ

*Е.В. Дудкина, В.В. Ульянова, Р. Шах Махмуд, В.И. Вершинина,
О.И. Ильинская*

ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г.Казань

Рибонуклеазы (РНказы) – ферменты класса гидролаз, осуществляющих деградацию мРНК, превращение предшественников РНК в зрелые формы, продукцию малых регуляторных РНК, а также расщепление определенных типов РНК [Зеленихин, 2012]. Клетка содержит около 20 видов экзо- и эндорибонуклеаз, которые могут входить в состав надмолекулярных комплексов и проявлять высокую специфичность к определенным нуклеотидным последовательностям и структурам [Deutscher, 2001]. Рибонуклеазы, продуцируемые про- и эукариотами отличаются каталитическими, физико-химическими свойствами, структурой и субстратной специфичностью. Внеклеточные микробные рибонуклеазы катализируют расщепление РНК по двухстадийному пути с образованием промежуточных продуктов олигонуклеотид-2', 3'-циклофосфатов [Дементьев, 1993]. Помимо своей основной функции, РНказы участвуют в контроле экспрессии генов, росте и дифференцировке клеток, иммунной защите и индукции апоптоза [Ulyanova *et al.*, 2011], однако, в настоящее время особое внимание уделяется биологическим эффектам рибонуклеаз, таким как контроль роста кровеносных сосудов, противоопухолевая и противовирусная активности [Зеленихин, 2012].

На сегодняшний день известно значительное количество РНказ, обладающих селективным цитотоксическим действием по отношению к раковым клеткам [Ardelt, 2009]. Наиболее известным ферментом этого ряда является РНКаза лягушки *Rana pipiens* – онконаза, проходящая третью стадию клинических испытаний против мезотелиомы легких человека [Leland, Raines, 2001]. Среди микробных рибонуклеаз наиболее ярким представителем является РНКаза, секретируемая *Bacillus pumilis* 7P – биназа (12 кДа, 109 аминокислотных остатков, pI 9,5). Фермент селективно ингибирует рост клеток аденокарциномы легких человека A549 и лейкоза Касуми [Mitkevich, 2011]. Показано, что естественным гомологом биназы является рибонуклеаза *Bacillus thuringiensis* var. *subtoxicus* B-388. Первичная последовательность этого белка отличается от последовательности биназы лишь одной заменой аминокислоты в положении 106: аланина на треонин [Дементьев, 1993]. Однако, проведенный нами биоинформационный анализ генома *B. thuringiensis* var. *subtoxicus* B-388, не выявил наличие в его составе нуклеотидных последовательностей, гомологичных гену биназы, что говорит о несоответствии видового названия данного микроорганизма с современной классификацией микроорганизмов. В связи с этим, целью настоящей работы явилось исследование таксономического положения *B. thuringiensis* var. *subtoxicus* B-388 согласно современной систематике микроорганизмов.

На первом этапе была проведена идентификация исследуемого микроорганизма с использованием масс-спектрометра Microflex LT MALDI-TOF (Bruker, Германия). В качестве положительного контроля применяли стандартные бактериальные тест-системы. Масс-спектрометрический анализ показал высокое значение соответствия этого штамма с микроорганизмом вида *B. pumilis*. Однако, значение степени гомологии не являлось абсолютно достоверным. В связи с чем, было выполнено секвенирование гена 16S rDNA исследуемого штамма с использованием двух пар праймеров 101F и 1110R, 933F и 1407R [Domann *et. al.*, 2003].

Анализ последовательности гена 16S rDNA на основе алгоритма Megablast показал 100% гомологию этого микроорганизма с *B. altitudinis*. Штамм *Bacillus thuringiensis* var. *subtoxicus* B-388 был переименован в микроорганизм, вида *B. altitudinis* B-388, последовательность гена 16S rDNA опубликована в базах данных EMBL/GenBank/DBJ, номер доступа JX129389.1.

Микроорганизм *B. altitudinis* был открыт в 2006 году [Shivaji *et al.*, 2006]. Физиологические и биохимические свойства, а также ферментный состав данного микроорганизма мало изучены. Высокая степень гомологии новой РНКазы *B. altitudinis* B-388 с биназой предполагает наличие у нее схожих цитотоксических свойств, которые на сегодняшний день не исследованы. Современные представления о роли и функциях микробных рибонуклеаз позволяют рассматривать эти ферменты в качестве перспективных терапевтических средств в щадящей терапии злокачественных новообразований.

ЗНАЧЕНИЕ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ КАРБАПЕНЕМАЗА-ПРОДУЦИРУЮЩИХ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ

К.Г. Косякова¹, О.А. Каменева², Л.А. Рощина.²

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова,

²СПб ГУЗ Детская городская больница № 22, Санкт-Петербург, Россия

В настоящее время отмечается повсеместная тенденция к увеличению доли инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями, в том числе семейства *Enterobacteriaceae*, а также быстрый рост резистентности и появление множественнорезистентных (MDR), суперрезистентных (XDR) и панрезистентных (PDR) штаммов. Среди возбудителей нозокомиальных инфекций количество *E. coli*, устойчивых к цефалоспорином III поколения, в России составляет 67,4%, *K. pneumoniae* – 89,4% и продолжает увеличиваться. В условиях нарастания популяционной резистентности энтеробактерий карбапенемы остаются препаратами резерва для терапии тяжелых инфекций. Поэтому появление и распространение штаммов, устойчивых к этим антибиотикам, представляет серьезную угрозу для здравоохранения и требует внедрения в практику эффективных и унифицированных методов их детекции и типирования.

Цель. Изучить резистентность к антимикробным препаратам *E. coli* и *K. pneumoniae* – возбудителей инфекций у амбулаторных и госпитализированных пациентов в лечебных организациях города Колпино, Санкт-Петербург, и оценить возможность выявления карбапенемаза-продуцирующих штаммов фенотипическим методом и методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с применением наборов «Амплисенс[®] MDR MBL-FL» и «Амплисенс[®] MDR KPC/OXA-48-FL» (ИнтерЛабСервис, Россия).

Материалы и методы. В период с 1 января по 31 декабря 2013 г. в 2 стационарах и 8 амбулаторно-поликлинических организациях проводили скрининг штаммов *E. coli* и *K. pneumoniae*, нечувствительных (устойчивых и с промежуточной чувствительностью) к цефалоспорином III-IV поколений (цефтазидиму, цефотаксиму, цефтриаксону, цефепиму) и карбапенемам (меропенему, имипенему, эртапенему), выделенных в этот период из различного клинического материала (кровь, моча, мокрота, отделяемое ран, цервикального канала, трахео-бронхиального дерева, желудочно-кишечного тракта, мазков из ротовой полости). Штаммы выделяли традиционными бактериологическими методами с использованием стандартных селективных и дифференциально-диагностических сред для энтеробактерий. Изоляты идентифицировали и определяли

чувствительность к антибиотикам с помощью прибора MicroScan WalkAway Plus System (Siemens, США) в соответствии с критериями CLSI (2012). Детекцию генов карбапенемаз проводили методом мультиплексной ПЦР в режиме реального времени с использованием амплификатора с системой оптической детекции CFX 96 (BioRad, США) и применением праймеров и флуоресцентно-меченных олигонуклеотидных зондов семейств сериновых карбапенемаз (KPC, OXA-48-подобные) и метало-бета-лактамаз (VIM, IMP, NDM).

Результаты. За 12 месяцев выделено 365 штаммов *E. coli* и 167 - *K. pneumonia*. Среди *E. coli* устойчивостью к цефотаксиму обладали 88 штаммов (24,1%), цефтазидиму – 93 (25,5%), цефтриаксону – 86 (23,6%), цефепиму – 85 (23,3%). Среди *K. pneumonia* выявлены штаммы устойчивые к цефотаксиму и цефтазидиму – по 91 (54,5%), цефтриаксону – 93 (55,7%), цефепиму – 92 (55,1%). Методом синергизма между цефалоспоринами и ингибитором (клавулановой кислотой) выявлены штаммы-продуценты бета-лактамаз расширенного спектра действия (БЛРС) – 68 изолятов *E. coli* (18,6%) и 77 изолятов *K. pneumonia* (46,1%).

Среди *E. coli* выявлены штаммы, устойчивые к карбапенемам: меропенему – 24 (6,6%), имипенему – 35 (9,6%), эртапенему – 43 (11,8%). Среди *K. pneumonia* устойчивостью к меропенему обладал 21 штамм (12,6%), имипенему – 22 (13,2%), эртапенему – 33 (19,8%). Полученные нами данные соответствуют результатам многоцентровых исследований о преобладании среди карбапенем-резистентных энтеробактерий, штаммов устойчивых к эртапенему по сравнению с другими АМП этой группы. Устойчивостью ко всем протестированным карбапенемам обладали 20 штаммов *E. coli* (5,5%) и 15 - *K. pneumonia* (9,0%), что превышает опубликованные данные об уровне распространенности карбапенем-резистентных энтеробактерий. 11 из 20 штаммов *E. coli* и 2 из 15 штаммов *K. pneumoniae*, устойчивых к карбапенемам, сохранили чувствительность хотя бы к одному из цефалоспоринов III поколения, хотя, по данным литературы, карбапенемы являются препаратами выбора для терапии тяжелых инфекций, вызванных MDR энтеробактериями.

Среди БЛРС-продуцирующих энтеробактерий фенотипическим методом (определение МИК) выявлены 3 штамма *E. coli* (0,8%) и 4 штамма *K. pneumonia* (2,4%), устойчивые к карбапенемам. Данный факт требует особой настороженности при оценке популяционной резистентности энтеробактерий и подтверждения референтными методами, которыми в настоящее время считаются ПЦР и ДНК-секвенирование. Относительно доступным для практических лабораторий методом подтверждения и расшифровки природы карбапенем-резистентности является метод ПЦР, который достаточно широко применяется в комплексной диагностике заболеваний различной этиологии, и при использовании специальных наборов реагентов применим для детекции генов резистентности у бактерий.

Проведена детекция генов карбапенем-резистентности у 11 штаммов энтеробактерий, в том числе 3 – БЛРС-продуцирующие *E. coli*, 4 – БЛРС-продуцирующие *K. pneumonia*, нечувствительные к цефалоспоринам III-IV поколений и карбапенемам (по результатам определения МИК), а также у 32 штаммов энтеробактерий, в том числе 9 – БЛРС-продуцирующие *E. coli*, 5 – БЛРС-продуцирующие *K. pneumonia*, нечувствительных к цефалоспоринам III поколения. У всех изолятов не было выявлено генов сериновых карбапенемаз (KPC, OXA-48-подобные) и метало-бета-лактамаз (VIM, IMP, NDM).

Анализ профилей резистентности протестированных штаммов, определенных фенотипическим методом, показал, что количество БЛРС-продуцирующих энтеробактерий – 26 (60,5%), устойчивых к цефепиму – 34 (79,1%), азтреонаму – 43 (100,0%), пиперациллин/тазобактаму – 30 (69,8%), амикацину – 12 (27,9%), тетрациклину – 17 (39,5%),

ципрофлоксацину и гентамицину – по 18 (41,9%). Выделен 1 суперрезистентный штамм *K. pneumonia*, устойчивый не только к пенициллинам и цефалоспорином II-IV поколений, в том числе к защищенным, но и ко всем протестированным АМП других функциональных классов (определялась чувствительность к 27 препаратам). Можно предположить, что устойчивость у XDR штамма *K. pneumonia* обусловлена иными механизмами, чем МБЛ и сериновые карбапенемазы, праймеры которых входят в состав наборов, а отрицательные результаты детекции генов у остальных штаммов, вероятно, являются следствием недостаточного использования фенотипических скрининг-методов перед постановкой ПЦР (определение МИК, модифицированный Hodge-тест, Е-тест, оценка синергизма с ЭДТА или ДПК).

Вывод. Метод ПЦР расширяет возможности лабораторий по выявлению механизмов резистентности, однако детекция генов лекарственной устойчивости может быть недостаточной в случае, если наборы содержат праймеры не всех известных генов. Фенотипические методы необходимы на этапе скрининга множественнорезистентных штаммов. Углубленный анализ результатов микробиологических исследований является необходимым этапом внедрения в практику лечебной организации системы инфекционного контроля с активным динамическим мониторингом.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ОБРАЗОВАНИЯ N-АЦЕТИЛ-D-ГЛЮКОЗАМИНА У ШТАММОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЧУМЫ ПРИ ТЕМПЕРАТУРАХ 28 °С И 37 °С

Е.И. Кошель, Н.А. Видяева, Л.В. Анисимова, Л.А. Новичкова, Г.А. Ерошенко

Федеральное казенное учреждение здравоохранения
«Российский научно-исследовательский противочумный
институт «Микроб» Федеральной службы по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,
г.Саратов

Бактериальная биопленка играет важную роль в жизнедеятельности возбудителей инфекционных болезней, обеспечивая им защиту как от действия иммунной системы макроорганизма, так и от неблагоприятных воздействий внешней среды во время пребывания вне организма хозяина. Большинство хронических инфекций человека и животных вызвано бактериями, образующими многоклеточные структурированные биопленки на внешних и внутренних поверхностях макроорганизма или на имплантах. В составе биопленок патогенные бактерии устойчивы к действию химиопрепаратов, антибиотиков и других антибактериальных веществ.

Роль биопленки в жизненном цикле возбудителя особо опасной болезни – чумы в настоящее время остается не вполне ясной. Ранее предполагалось, что *Yersinia pestis* образует биопленку только при температуре 28°C и, что это свойство необходимо возбудителю для образования «блока» в преджелудке блох. Известно, что блокированные блохи являются эффективными переносчиками чумы. Однако в литературе встречаются единичные сообщения о том, что возбудитель чумы способен образовывать биопленку и при температуре тела теплокровного животного (37 °C), и что уровень синтеза основного компонента биопленки – N-ацетил-D-глюкозамина значительно повышается при этой температуре. В связи с этим нам

проведен сравнительный анализ уровня продукции основного компонента биопленки – N-ацетил-D-глюкозамина при температурах 28°C и 37°C у различных штаммов *Y. pestis*.

Материал и методы. В исследовании использовано 8 штаммов *Y. pestis*,: KM231, KM 260(5), C-534, A1726, И2422, A1824, KM130(3), EV НИИЭГ, из которых два последних не были способны к образованию биопленки. Культуры выращивались в течение 2 суток на шейкере при температурах 28°C и 37°C в бульоне LB. Уровень образования N-ацетил-D-глюкозамина у исследуемых штаммов *Y.pestis* оценивали по реакции с лектинами проростков пшеницы, конъюгированными с пероксидазой хрена. Специфичность взаимодействия лектина с N-ацетил-D-глюкозамином подтверждали контрольной реакцией с периодатом натрия, который специфически разрушает связи в полисахаридах. Учет результатов реакции проводили на спектрофотометре «Stat Fax 2100» (Awareness technology inc.) при длине волны 405 нм. В анализе использовали показатели тех лунок, в которых концентрация образцов в фосфатном буфере составляла 1:1.

Результаты. В результате проведенного исследования нами установлено, что способные к образованию биопленки штаммы *Y. pestis* практически не продуцируют основной компонент ее матрикса – N-ацетил-D-глюкозамин. при температуре 37°C, как и штаммы, дефектные по свойству формирования биопленки из-за обширной делеции *pgm*-области, содержащей множество генов, ответственных за проявление этого феномена. Штаммы с делетированной *pgm* областью – KM130(3) и EV НИИЭГ, выращенные как при 28°C, так и при 37°C, давали только фоновый уровень окраски при постановки реакции со специфическими лектинами (уровень поглощения на спектрофотометре – от 0,05 до 0,083). Близкий уровень поглощения имели и интактные по этому свойству штаммы, выращенные при 37°C (уровень поглощения от 0,048 до 0,115). Данные значения в 3,7-12,8 раз ниже показателей, демонстрируемых этими штаммами при температуре 28°C. Полученные результаты однозначно свидетельствует о том, что продукция экзополисахарида у исследованных штаммов *Y.pestis* значительно выше при температуре 28°C, соответствующей температуре внешней среды и температуре преджелудка блох. Этот вывод справедлив как для изученных нами штаммов основного (KM231, KM 260(5), A1824), так и неосновных (C-534, A1726, И2422) подвидов возбудителя чумы. Важно отметить, что все использованные штаммы (кроме двух – KM130(3) и EV НИИЭГ) обладают способностью образовывать пигментированные (красные) колонии на плотной среде с Конго красным. При этом процент образования пигментированных колоний коррелирует с уровнем продукции N-ацетил-D-глюкозамина, и чем выше процент таких колоний, тем выше интенсивность реакции с лектином. Δ *pgm*-штаммы *Y.pestis* KM130(3) и EV НИИЭГ не обладают способностью образовывать пигментированные колонии, что коррелирует с отсутствием у них продукции экзополисахарида.

Таким образом, результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что продукция основного компонента внеклеточного матрикса биопленки N-ацетил-D-глюкозамина у штаммов *Y. pestis* значительно выше при температуре 28°C, чем при 37°C. Кроме того, нами подтверждена корреляция между способностью образовывать пигментированные колонии на среде с Конго красным и высоким уровнем образования экзополисахарида.

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ШТАММОВ *Yersinia pestis* МЕТОДОМ ПЦР

Никифоров К.А., Одинокоев Г.Н., Ерошенко Г.А.

Федеральное казенное учреждение здравоохранения
«Российский научно-исследовательский противочумный
институт «Микроб» Федеральной службы по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,
г.Саратов

Штаммы *Yersinia pestis* – возбудителя особо опасной инфекционной болезни чумы включают пять подвидов: основной (высоковирулентные и эпидемически значимые штаммы) и четыре неосновных (кавказский, алтайский, гиссарский и улегейский) подвида с низкой вирулентностью и эпидемической значимостью. Дифференциацию штаммов разных подвидов осуществляют на основе различий в экспрессии дифференциальных биохимических признаков – ферментации сахаров и спиртов, редукции нитратов.

Целью нашего исследования была разработка простого и надежного способа дифференциации штаммов разных подвидов возбудителя чумы методом ПЦР. Применение такого способа позволит значительно сократить время проведения анализа и повысить его чувствительность.

На основе сравнительного анализа полных нуклеотидных последовательностей штаммов *Y.pestis* CO92, KIM, Nepal, Antiqua основного подвида и штаммов 91001, Pestoides F, Angola неосновных подвидов, а также фрагментов геномов других штаммов, которые представлены в базе данных NCBI GenBank, нами выявлены три ДНК мишени, использование которых позволяет проводить в ПЦР разделение всех пяти подвидов *Y. pestis*. Одна из них представляет участок хромосомы, лежащий в межгенном пространстве между генами *wzyE* и *dapF*. У штаммов кавказского и улегейского подвидов этот локус интактен, а у штаммов основного подвида в нем содержится делеция размером 34 п.н., в то время как у двух других неосновных подвидов присутствует вставка размером 17 п.н. В другом хромосомном локусе, расположенном в межгенном пространстве между YPDSF_0064 и YPDSF_0065, у штамма Pestoides F (кавказский подвид) присутствует вставка размером 60 п.н., которая отсутствует у других подвидов. В третьем выявленном нами локусе, который располагался в межгенном участке между генами YPO3332 и YPO3333, у штаммов алтайского подвида содержится делеция размером 122 п.н., которая не выявляется у других подвидов *Y.pestis*.

На выявленные полиморфные участки рассчитаны специфические праймеры. Подобраны оптимальные условия проведения ПЦР, которые для мишеней *wzyE-dapF* и YPDSF составили: 1 цикл 94°C в течении 5 мин, затем 35 циклов при 94°C 45 сек, 57°C 1 мин, 72°C 45 сек и завершающий цикл 3 мин при 72°C, а для мишени Alt(-122): 1 цикл 94°C в течении 5 мин, затем 35 циклов при 94°C 45 сек, 58°C 1 мин, 72°C 45 сек и завершающий цикл 3 мин при 72°C. Дифференциацию штаммов разных подвидов проводят по размерам образуемых в ПЦР амплификатов. У штаммов основного подвида с праймерами на первую ДНК мишень образуются амплификаты размером 139 п.н., на вторую – 448 п.н., на третью 212 п.н. У штаммов кавказского подвида размеры образуемых амплификатов составляют соответственно 173, 508 и 212 п.н., у алтайского подвида 190, 448 и 90 п.н., у гиссарского подвида 190, 448 и 212 п.н., у улегейского подвида 173, 448 и 212 п.н.

Также же целью нашего исследования была разработка способа дифференциации штаммов разных биоваров основного подвида возбудителя чумы с помощью ПЦР.

Для выполнения этой цели используются выявленные нами три ДНК мишени: первая мишень (получившая название «Med24») располагается в межгенном участке между геном *gscT* и геном *visC* (у штаммов средневекового биовара имеется делеция 24 п.н.), вторая (получила название «pСКF») представляет собой участок уникальной для штаммов из Центрально-Кавказского высокогорного очага плазмиды, размером 5,4 т.п.н., которая отсутствует у других биоваров и подвигов, третья расположена в гене *glpD* глицеролфосфатдегидрогеназы (штаммы восточного биовара содержат делецию 93 п.н.).

На выявленные мишени рассчитаны праймеры и подобраны условия для амплификации. Амплификацию ДНК для мишеней «Med24», «*glpD*», «pСКF» осуществляют по следующей программе: 1 цикл 94°C в течении 5 мин, затем 35 циклов – 94°C 45 сек, 57°C 1 мин, 72°C 45 сек и завершающий цикл 3 мин при 72°C.

Дифференциацию биоваров проводят по наличию и размеров, образуемых в ПЦР фрагментов.

У штаммов античного биовара с праймерами на «MED24» и «*glpD*» образуются фрагменты размером 222 и 508 п.н. и не образуется амплификат с праймерами на мишень «pСКF».

У штаммов средневекового биовара образуются соответственно фрагменты размером 198 п.н. и 508 п.н. и не образуется амплификат на мишень pСКF, за исключением штаммов средневекового биовара из Центрально-Кавказского высокогорного очага, у которых образуются фрагменты соответственно размером 222 и 508 п.н., образуется амплификат размером 420 п.н. с праймерами на мишень «pСКF».

У штаммов восточного биовара образуются соответственно фрагменты размером 222 п.н. и 415 п.н. с праймерами на «MED24» и «*glpD*», и не образуется амплификат на мишень «pСКF».

Эффективность разработанных ПЦР подтверждена на 102 штаммах *Y.pestis* разных подвигов и биоваров. Таким образом, нами разработан удобный, быстрый и эффективный способ генотипирования возбудителя чумы, позволяющий устанавливать принадлежность штаммов к одному из пяти (основной, кавказский, алтайский, гиссарский и улегейский) подвигов и к одному из трех биоваров основного подвида *Y.pestis*.

ХАРАКТЕРИСТИКА УСТОЙЧИВОСТИ К ЛЕКАРСТВЕННЫМ ПРЕПАРАТАМ БАКТЕРИЙ РОДА *LACTOBACILLUS* ИЗ ПРОБИОТИКОВ И КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Д.Р. Ахатова, Н.Л. Бруслик, Д.Р. Яруллина, С.Р. Абдулхаков, О.Н. Ильинская

ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г.Казань

Нарушение нормальной микрофлоры кишечника (дисбактериоз) может обуславливать развитие целого ряда заболеваний в организме человека - от самых незначительных до крайне тяжелых. Одной из причин возникновения дисбактериоза является использование антибиотиков и других препаратов с антибактериальным эффектом. Для снижения негативного влияния данных лекарственных средств на кишечную микробиоту во время или после антибиотикотерапии обычно назначают прием пробиотиков – живых микроорганизмов, способных оказывать благотворное действие на здоровье человека. Ввиду этого резистентность пробиотических микроорганизмов к

антибактериальным препаратам является важным критерием при их отборе для использования в пробиотикотерапии.

Цель исследования: оценка устойчивости лактобацилл из пробиотических препаратов и кисломолочных продуктов к антибиотикам и 5-аминосалициловой кислоте (5-АСК).

Объектами исследования служили 19 штаммов лактобацилл, полученных из кисломолочных продуктов и пробиотических препаратов. Принадлежность выделенных штаммов микроорганизмов к роду *Lactobacillus* устанавливали согласно ГОСТ 10444.11-89: по отношению к окраске по Граму, подвижности, наличию спорообразования и каталазы. В работе диско-диффузионным методом проанализировали чувствительность лактобацилл к 12 различным антибиотикам: β -лактамам (ампициллину), аминогликозидам 1 поколения (стрептомицину, канамицину), 2 поколения (гентамицину), 3 поколения (амикацину), макролидам (эритромицину), линкозаминам (клиндамицину), гликопептидам (ванкомицину), ансамицинам (рифампицину), фторхинолонам 1 поколения (ципрофлоксацину), тетрациклину, хлорамфениколу. Ни один штамм не был устойчивым ко всем использованным антибиотикам. Представители *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* 51, выделенные из препарата «Гастрофарм» (АО «Биовет», Болгария), демонстрировали наиболее широкий спектр устойчивости, обладая чувствительностью только к рифампицину, тетрациклину и хлорамфениколу. Кроме него широкий спектр устойчивости к антибиотическим препаратам обнаружен у бактерий *Lactobacillus sp.* 3-4, выделенных из кисломолочного напитка «Тан» (ООО Продукт «Чистая линия»), *L. acidophilus n.v. E.p.317/402* и *L. plantarum* 8P-A3, выделенных из коммерческих пробиотических препаратов. Таким образом, пациентам, проходящим курс лечения антибиотиками, показан прием пробиотических препаратов, поскольку потребление пробиотических бактерий в составе кисломолочных продуктов не обеспечивает поступление в организм устойчивых к антибиотикам микроорганизмов. Кроме того, целесообразно создание поликомпонентных пробиотических препаратов, несущих несколько штаммов, отличающихся по спектру чувствительности к антибиотикам. Так, например, сочетание штаммов *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* 51 и *L. plantarum* 8P-A3 позволит получить комплексный препарат, микроорганизмы в котором обладают устойчивостью ко всем исследованным антибиотикам.

Наибольшей бактерицидной активностью в отношении лактобацилл обладал клиндамицин, угнетая развитие представителей 15 из исследованных 19 штаммов. Антибиотики ципрофлоксацин, хлорамфеникол, канамицин и тетрациклин также оказывали выраженное бактерицидное действие на бактерии 14, 13, 12 и 12 штаммов, соответственно. Следовательно, при терапии данными антибиотиками необходимо особенно тщательно подбирать пробиотики для восстановления микробиоты организма.

5-АСК (месалазин) часто назначается при язвенном колите и болезни Крона, поскольку обладает противовоспалительными и иммуносупрессорными свойствами. Течение болезни и ее лечение данным препаратом, как правило, сопровождается диареей. Чтобы оценить целесообразность параллельного приема пробиотиков, мы охарактеризовали влияние 5-АСК на выживаемость лактобацилл из пробиотических препаратов и кисломолочных продуктов. Для исследования воздействия 5-АСК на рост лактобацилл отобрали указанные выше штаммы, устойчивые к максимально широкому спектру антибиотиков. Бактерии инкубировали в присутствии различных концентраций 5-АСК в течение 48 ч, после чего оценивали рост по поглощению света при 600 нм. Показали, что месалазин в концентрации 0-1000 мкМ не влияет на рост лактобацилл, следовательно, параллельный прием 5-АСК и содержащих лактобациллы пробиотиков не будет приводить к снижению жизнеспособности последних.

Исследование антибиотикорезистентности лактобацилл и их устойчивости к лекарственным средствам, применяемым при заболеваниях кишечника, позволит скорректировать существующие схемы приема пробиотиков для более эффективного предотвращения и лечения дисбактериозов в гастроэнтерологической практике.

ОЦЕНКА АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ ЛИСТЬЕВ *SALVIA OFFICINALIS L.*

Л.Т.Мусина, Р.Ш. Хазиев, А.С.Макарова, А.Н.Николаева

ГБОУ ВПО «Казанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
г. Казань

Листья шалфея лекарственного (*Salvia officinalis L.*, сем. *Lamiaceae*) — популярное лекарственное средство, которое имеет долгую историю эффективного медицинского применения в европейской и отечественной медицине. Прежде всего, шалфеем известен своими противовоспалительными и антимикробными свойствами и часто применяется для лечения заболеваний полости рта и верхних дыхательных путей. В настоящее время, несмотря на то, что листья шалфея стандартизируются согласно ГФ XI по содержанию эфирного масла, основной группой соединений, отвечающих за антибактериальную активность, признаются дитерпеновые кислоты. Учитывая, что дитерпеновые кислоты являются гидрофобными соединениями, мы предположили, что они должны избирательно экстрагироваться неполярными растворителями типа гексана или петролейного эфира.

Целью нашей работы было получение извлечений из листьев шалфея лекарственного на основе целевой экстракции действующих веществ неполярными растворителями и оценка их антибактериальной активности.

Для целевой экстракции дитерпеновых кислот мы использовали петролейный эфир. Петролейный эфир является гидрофобным растворителем, позволяющим избирательно экстрагировать дитерпеновые кислоты. Использование такого рода растворителя позволяет минимизировать попадание сопутствующих веществ фенольной природы в извлечение. Для проверки перехода дитерпеновых кислот в петролейный эфир нами был записан УФ-спектр полученного извлечения. УФ-спектр имел основной максимум при 285 ± 3 нм и практически полностью повторял спектр карнозоловой кислоты, что подтвердило наше предположение об избирательной экстракции дитерпеновых кислот данным растворителем.

На дальнейшем этапе работы были определены условия исчерпывающей экстракции дитерпеновых кислот. В качестве изучаемых факторов были выбраны степень измельчения, модуль экстракции и продолжительность нагревания. Было определено, что исчерпывающая экстракция дитерпеновых кислот достигается при 30 минутном кипячении сырья с петролейным эфиром при соотношении сырья и экстрагента 1:30.

Для исследования антибактериальной активности были получены следующие препараты из листьев шалфея лекарственного: суммарное спиртовое извлечение, петролейный экстракт и спиртовое извлечение из жома, оставшегося после экстракции дитерпеновых кислот петролейным эфиром. В случае спиртовых извлечений использовалось предварительное

смачивание сырья 1% раствором кислоты хлористоводородной для перевода солевых форм дитерпеновых кислот в форму кислот. Для проведения микробиологических испытаний в случае петролейного экстракта растворитель отгоняли под вакуумом и сухой остаток растворяли в эквивалентном количестве спирта — 100 мл. Оценку антибактериальной активности проводили по ФС 42-1348-91 «Раствор хлорофиллипта 1% спиртовой» методом двукратных серийных разведений в мясо-пептонном бульоне (МПБ) (рН 7,0) с тест-микробом *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-Р. Однако метод серийных разведений в МПБ не всегда позволял визуально определить наличие или отсутствие роста тест-микроба. Для устранения этого недостатка фармакопейной методики нами был разработан метод, где антибактериальную активность извлечений определяли, используя мясо-пептонный агар (МПА), на поверхность которого в чашках Петри методом репликаций из каждой пробирки делали пересев и инкубировали в термостате в течение 18-24 часов. Разведение извлечения, на котором отсутствовал рост тест-штамма характеризовало его антибактериальную активность. Каждый опыт проводился в трёх повторностях. Минимальные подавляющие концентрации (МПК) для суммарного спиртового извлечения, петролейного экстракта, спиртового извлечения из жома, оставшегося после экстракции дитерпеновых кислот петролейным эфиром, составили 1:64, 1:16, 1:32 соответственно.

Из полученных результатов видно, что антибактериальная активность петролейного экстракта в 8 раз ниже, чем у спиртового экстракта листьев шалфея, что свидетельствовало о наличии антибактериальной активности не только у дитерпеновых кислот, но и у фенольных соединений (предположительно гидроксикоричных кислот).

Таким образом, полученные результаты позволяют утверждать, что петролейный эфир избирательно извлекает дитерпеновые кислоты из листьев шалфея лекарственного. В тоже время, установлено, что вклад в антибактериальную активность листьев шалфея лекарственного помимо дитерпеновых кислот вносят и другие фенольные соединения (предположительно гидроксикоричные кислоты).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ MLVA ТИПИРОВАНИЯ ДЛЯ КЛАСТЕРИЗАЦИИ ШТАММОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЧУМЫ ИЗ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ И СОПРЕДЕЛЬНЫХ ГОСУДАРСТВ.

Н.Ю. Носов, Н.Ю. Шавина, Н.П. Гусева, Г.А. Ерошенко

Федеральное казенное учреждение здравоохранения
«Российский научно-исследовательский противочумный
институт «Микроб» Федеральной службы по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,
г.Саратов

Генотипирование возбудителя чумы представляет собой достаточно сложную задачу из-за его высокой генетической мономорфности, связанной с недавним происхождением от предшественника – возбудителя псевдотуберкулеза. В связи с этим для проведения внутривидовой дифференциации штаммов *Yersinia pestis* по их подвижной, биоварной и очаговой принадлежности необходимо использование высокоразрешающих генетических методов, к наиболее эффективным из которых следует отнести метод анализа переменного числа tandemных повторов (MLVA). Метод MLVA широко используется для типирования многих

генетически однородных молодых бактериальных патогенов, таких как *Yersinia pestis*, *Bacillus anthracis*, *Francisella tularensis*,

Для проведения молекулярного типирования штаммов *Y.pestis* применяются разные варианты MLVA, связанные с анализом различного числа и размера анализируемых VNTR локусов. Широко используется метод MLVA25, основанный на анализе в геноме *Y.pestis* 25 VNTR локусов. Этот метод обладает высокими разрешающими возможностями и позволяет разделять штаммы *Y.pestis* разных подвидов, биоваров, а также штаммы из различных очагов. Однако в целях сокращения времени анализа, в случае необходимости быстрого получения результатов (например, при вспышке чумы или биотеррористической атаке), может применяться MLVA7, использующий вариабельность 7 VNTR локусов. С помощью MLVA7 и MLVA25 в настоящее время исследуется мировое разнообразие штаммов возбудителя чумы, включая штаммы, циркулирующие в некоторых очагах Российской Федерации и сопредельных государств. Однако штаммы из большинства природных очагов России и других стран СНГ остаются не охарактеризованными по их MLVA7 и MLVA25 генотипам. Не создана схема молекулярной идентификации этих штаммов на основе MLVA7 и MLVA25 анализа.

В этой работе нами проведено определение MLVA25 и MLVA7 генотипов штаммов *Y.pestis* из природных очагов России, стран СНГ и некоторых сопредельных стран. Для проведения MLVA25 анализа мы применяли традиционно используемые праймеры на 25 локусов (ms01, ms04, ms05, ms06, ms07, ms09, ms15, ms20, ms21, ms35, ms38, ms40, ms41, ms44, ms45, ms46, ms51, ms54, ms56, ms62, ms69, ms70, ms71, ms73 и ms74). MLVA25 анализ выполнен нами на 27 штаммах возбудителя чумы из всех природных очагов РФ и некоторых очагов сопредельных государств. Секвенирование полученных в ПЦР VNTR участков проводили на генетическом анализаторе модели ABI 3500 XL. На основе полученных нуклеотидных последовательностей 25 VNTR локусов был определен MLVA25 генотип каждого штамма, и создана база данных в программе BioNumerics 7.1 (Applied Maths, Belgium), в которой проводился сравнительный анализ и построение дендрограммы по алгоритму Ward. Полученные MLVA25 генотипы могут быть использованы для идентификации штаммов *Y.pestis* по их очаговой принадлежности.

Для проведения MLVA7 анализа мы использовали праймеры на локусы ms01, ms04, ms06, ms07, ms046, ms62 и ms70. С помощью MLVA7 анализа исследовано 120 штаммов *Y.pestis* из очагов России, других стран СНГ и сопредельных государств. Установлено, что использование этой «упрощенной» схемы MLVA7 типирования также обеспечивает кластеризацию штаммов *Y.pestis* по их подвидовой, биоварной и частично очаговой принадлежности. С помощью метода MLVA7 легко идентифицируются штаммы античного биовара основного подвида, которые кластеризуются по их географической принадлежности – природные очаги Сибири, Тянь-Шаня, Монголии. Также метод MLVA7 эффективен для дифференциации штаммов неосновных подвидов возбудителя чумы. Штаммы алтайского, гиссарского и улегейского подвидов образуют на MLVA7 дендрограмме отдельные кластеры, что свидетельствует о генетической однородности этих подвидов. Штаммы кавказского подвида, напротив, очень разнообразны и формируют несколько независимых кластеров. Наибольшую сложность представляет собой разделение по природной очаговости штаммов основного подвида средневекового биовара, поскольку штаммы этого биовара очень однородны по составу. Тем не менее, использование MLVA7 анализа обеспечивает надежное определение очаговой принадлежности штаммов из очагов Прикаспия в России, и кластеризацию штаммов средневекового биовара из Среднеазиатских пустынных очагов.

Сравнение полученных MLVA25 и MLVA7 генотипов с генотипами штаммов *Y.pestis*, представленных в NCBI GenBank, свидетельствует об уникальности MLVA25 и MLVA7 генотипов штаммов из природных очагов России и сопредельных государств.

Таким образом, в результате выполненных исследований нами получены MLVA25 и MLVA7 генотипы штаммов *Y.pestis* из всех природных очагов Российской Федерации, других стран СНГ и ряда сопредельных государств, которые могут быть использованы для молекулярной идентификации вновь выделяемых изолятов *Y.pestis* в целях установления их подвидовой и биоварной принадлежности, а также источника очагового происхождения этих штаммов.

ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ STR. MUTANS У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА В РАЗЛИЧНЫХ БИОТОПАХ ПОЛОСТИ РТА

Е.В. Безвушко, К.Г. Мусий-Семенцев

Львовский национальный медицинский университет
имени Данила Галицкого,
г. Львов

К наиболее важных, однако управляемых, местных кариесогенных факторов риска относят: патогенную микрофлору зубного налета, неудовлетворительный уход за полостью рта, изменение качественных и количественных свойств ротовой жидкости, употребление продуктов питания с высоким содержанием рафинированных углеводов. Среди микроорганизмов, особенно кариесогенными считаются стрептококки, в частности *Streptococcus mutans*, которые обладают способностью колонизироваться на поверхности зуба и производить кислоту, которая при недостаточной нейтрализации способствует снижению pH до критического уровня, что в свою очередь, может привести к деструкции эмали. Взаимодействие факторов в ротовой полости, при наличии благоприятной среды и субстрата - углеводов, способных ферментироваться, в течении определенного периода приводит к нарушению баланса между процессами деминерализации и реминерализации в области контакта поверхности зуба и зубной бляшки (биопленки). Детальный анализ результатов многочисленных исследований, касающихся связи уровня *Str. mutans* в различных биотопах полости рта и кариеса временных зубов у детей дошкольного возраста свидетельствует, что наличие данного микроорганизма в зубных отложениях или ротовой жидкости детей этого возраста может быть связана с повышенным риском развития кариеса временных зубов.

Цель исследования: Исследовать уровень *Str. mutans* в различных биотопах полости рта детей раннего возраста.

Материал и методы исследования. Проведено микробиологическое исследование зубного налета и ротовой жидкости у 138 детей 2-5 лет. Исследования проводили по стандартным бактериологическим и бактериоскопическим методикам. Проводилась микроскопия мазков и микробиологическое исследование аэробной микрофлоры зубного налета и ротовой жидкости.

Материал забирали натошак или через 3 часа после приема пищи. Забор ротовой жидкости осуществляли путем сплевывания в стерильную пробирку. Для количественных исследований материал забирали стандартной калибровочной петлей с поверхности зубов на границе с тканью десны, достигая заполнения материалом всей площади петли, благодаря чему объем собраного материала составлял 0,02 мл. Материал вносился в пробирку с 1 мл сахарного бульона и

тщательно размешивался. Вследствие этого получали рабочее разведение материала 1:50. С рабочего разведения производили посевы на кровяной агар (КА). Для количественных исследований, с рабочего разведения материала микрометодом, с использованием стандартных стерильных полистироловых пластин, готовились 10-кратные разведения от 1 до 7 в 1g разведений. Из полученных разведений производили посевы, внося по 0,2 мл на соответствующие среды.

С целью выделения оральных стрептококков чашки с посевами помещались в эксикатор с повышенным уровнем карбондиоксида (CO₂). Для стрептококков определялся характер роста на бульоне с образованием осадка, особенности колоний на КА, а также тип гемолиза: α - гемолиз, характеризуется позеленением КА, β - гемолиз - образование зоны полного гемолиза на КА или отсутствие гемолиза. Для выделенных культур определялась чувствительность к оптохину, бацитрацину, и 40% желчи, ферментация инулина. В группу *Str. mutans* относились стрептококки устойчивые к оптохину и бацитрацину, которые характеризовались незначительным α - гемолизом; растут в присутствии CO₂.

Результаты исследования: При микробиологическом исследовании зубного налета у детей с интактными зубами, в большинстве случаев, выявлено низкое количество *Str. mutans* (72%) и высокое - в 28% детей. Однако, у детей с кариесом временных зубов, высокое количество *Str. mutans* выделено в 72,2% обследованных детей и в 27,8% - низкое.

В ротовой жидкости 51% детей с интактными зубами определено низкое количество *Str. mutans*, средний и высокий уровень микроорганизмов обнаружен в значительно меньшего процента детей (17% и 12% соответственно). Однако, у детей с пораженными кариесом зубами всего в 16% случаев выявлено низкое количество стрептококков, и у большинства детей (68%), отмечались высокие показатели заселения ротовой жидкости стрептококками.

Из ротовой жидкости у 78% детей с интактными зубами и у 100% детей с кариесом временных зубов было выделено *Str. mutans*. В зубном налете данный микроорганизм присутствовал в 65% детей с интактными зубами и у всех детей с пораженными кариесом зубами. Уровень *Str. mutans* в ротовой жидкости детей с интактными зубами составляет $3,43 \pm 0,01$ 1gKYO/мл, а у детей с кариесом временных зубов значительно выше и соответственно равен $5,51 \pm 0,05$ 1gKYO/мл ($p < 0,001$). Однако, исследования концентрации стрептококков в зубном налете указывают на несколько большие показатели. Так, у детей с интактными зубами, уровень *Str. mutans* составляет $3,67 \pm 0,01$ 1gKYO/мл, а у детей с пораженными кариесом зубами значительно выше и соответственно равен $6,01 \pm 0,03$ 1gKYO/мл ($p < 0,001$).

Анализ данных по степеням активности кариеса показал, что концентрация *Str. mutans* увеличивается вместе с ростом интенсивности кариеса. При сравнении результатов исследования в различных биотопах полости рта определено, что уровень стрептококков выше в зубном налете, чем в ротовой жидкости. Так, у детей с I степенью активности кариеса уровень *Str. mutans* равен $5,74 \pm 0,01$ 1gKYO/мл в зубном налете и несколько меньше ($4,94 \pm 0,03$ 1gKYO/мл) в ротовой жидкости ($p < 0,001$). При III степени активности кариеса показатель значительно возрастает и соответственно составляет $6,26 \pm 0,01$ 1gKYO/мл в зубном налете и $5,82 \pm 0,03$ 1gKYO/мл в ротовой жидкости ($p < 0,001$).

Заключение: Итак, *Str. mutans* выделено из ротовой жидкости 78% детей с интактными зубами и у 100% детей с кариесом временных зубов. В зубном налете данный микроорганизм был обнаружен в 65% детей с интактными зубами и у всех детей с пораженными кариесом зубами. Однако, уровень стрептококков выше в зубном налете по сравнению с ротовой жидкостью. Концентрация *Str. mutans* также увеличивается вместе с ростом интенсивности кариеса временных зубов.

КАНДИДОЗНЫЙ ДИСБИОЗ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ ГАСТРОДУОДЕНИТАМИ

С.В. Соковнина, М.В. Кузьяев, Е.Г. Вихарева

ГОУ ВПО ИГМА Минздравсоцразвития России
ГУЗ «Первая Республиканская клиническая больница МЗ УР,
ФГБУ «Российский научный центр медицинской реабилитации и курортологии»
г.Ижевск

В последнее время, в связи с увеличением интенсивности воздействия на организм человека внешних факторов, вызывающих нарушения в системе антимикотической защиты, возросла актуальность проблемы микозов у пациентов гастроэнтерологического профиля. В состав нормальной микробиоты человека входят дрожжеподобные грибы, поэтому одной из наиболее частых грибковых инфекций во всех возрастных группах является кандидоз слизистых оболочек органов пищеварения. *Candida spp.* играют важную роль в возникновении заболеваний органов пищеварения у детей и взрослых, таких как стоматит, гингивит, эзофагит, хронический гастродуоденит, хронические заболевания кишечника. Около 36% всех дисбиозов кишечника протекают с избыточным интестинальным ростом *Candida spp.* В научной литературе существует несколько терминов, применяемых для обозначения состояний, ассоциированных с обнаружением грибов в кишечнике: избыточный интестинальный рост *Candida*, синдром кандидозной гиперчувствительности, кандидозный энтерит, дисбиоз кишечника с повышенной пролиферацией *Candida spp.*

У здоровых людей постоянно имеет место присутствие *Candida albicans* с увеличением колонизационной плотности в каудальном направлении (от 20-30% в орофарингеальной зоне до 55-70% - в толстом кишечнике и фекалиях). Являясь резервуаром грибов, желудочно-кишечный тракт при структурно-функциональных изменениях может способствовать появлению патогенных свойств, вегетирующих форм, образованию псевдомицелия или мицелия у *Candida spp.*, дополнительно повреждающих слизистую оболочку. Другим важным фактором, контролирующим рост условно-патогенной биоты, является состояние нормобиоты кишечника, чутко реагирующей на любые отклонения в функционировании пищеварительной системы и всего организма. В случае дефицита нормобиоты возникают условия для адгезии на слизистой оболочке кишечника дрожжеподобных грибов и другой условно-патогенной биоты.

У детей с наиболее распространенной патологией органов пищеварения – хроническими гастродуоденитами (ХГД) мы имеем дело с совокупностью многих факторов, создающих дополнительные условия для размножения грибов и бактерий, что не только ухудшает состояние пациентов, но и значительно снижает эффективность лечения. В тоже время, кандидозная инфекция, за счет усугубления дисбиотических нарушений, изменений со стороны иммунной системы, микогенной сенсibilизации и интоксикации, нарушений полостного и пристеночного пищеварения, негативно влияет на течение основного процесса.

Целью нашего исследования явилось изучение частоты высева у *Candida spp.* у детей с гастродуоденитом и сопутствующим синдромом избыточного бактериального роста. Для решения поставленной цели нами было проведено исследование 42 детей в возрасте 6-14 лет, находящихся на лечении в 1 РДКБ г. Ижевска, у которых был морфологически верифицирован диагноз «хронический гастродуоденит» и имелось информированное согласие родителей на проведение исследования.

Помимо общего осмотра, применяли традиционный для ХГД набор лабораторно-инструментальных методов исследования, дополнительно включавших бактериологическое исследование фекалий для оценки микробного пейзажа кишечника.

Материалом для исследования на дисбиоз кишечника и выделения *Candida spp.* служили фекалии. Для посева материала использовали стандартные и модифицированные питательные среды. Идентификацию проводили согласно принятым методикам.

Изучение в анамнезе особенностей сопутствующей патологии показало, что у детей с дисбиозом кишечника с пролиферацией *Candida spp.* аллергические заболевания встречаются чаще, а частота эпизодов ОРВИ выше, чем у детей с отсутствием избыточного роста *Candida spp.* Клинические проявления заболевания (болевой синдром, синдром желудочной и кишечной диспепсии, изменение характера и частота стула) у детей с кандидозом кишечника более выражены.

При оценке микробного пейзажа кишечника практически у всех исследуемых детей с хроническим гастродуоденитом были выявлены нарушения микробиоценоза кишечника. Так, уменьшение основных представителей нормобиоты со значительным снижением бифидумбактерий, лактобацилл, наблюдалось у 2/3 больных. Отмечалось уменьшение кишечной палочки с нормальной ферментативной активностью. Помимо уменьшения нормобиоты в 1/3 случаев обнаруживали энтерококки, других представителей условно-патогенной флоры, гемолизирующие штаммы кишечной палочки, золотистые стафилококки. У 13 пациентов (30,9%) пролиферация *Candida spp.* в кишечнике была более 10^4 КОЕ/г. У некоторых больных грибы находились в ассоциации с условно-патогенной бактериобиотой – *Citrobakter sp.*, *Klebsiella sp.*

Таким образом, у детей с хроническим гастродуоденитом часто имеет место дисбиоз с увеличением представительства *Candida spp.* и уменьшением содержания нормобиоты в составе микробиоты толстой кишки. В случае сочетания хронического гастродуоденита и кандидозного дисбиоза в клинической картине дополнительно появляются симптомы кишечной диспепсии, среди сопутствующей патологии – аллергические проявления. Следовательно, дети с хроническими гастродуоденитами относятся к группе риска по развитию кандидозной инфекции, что диктует необходимость соответствующей коррекции при проведении традиционных схем лечения.

ИММУНОГЕННЫЕ СВОЙСТВА ГИАЛУРОНИДАЗЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

С.Ф. Сулейманов¹, Б.Ю. Музаффаров¹, С.С. Восиев², Ш.И. Ильназарова²

¹ Бухарский государственный медицинский институт, г. Бухара,

² Бухарский медицинский колледж, г. Бухара.

Известно, что гиалуронидаза (Hyal.), являясь лизосомальным ферментом, относится к группе глюкозамингликангидролаз, осуществляющих расщепление кислых мукополисахаридов. Основным субстратом, подвергаемым гидролитическому расщеплению Hyal., является глюкуроновая кислота. Глюкуроновая кислота как обязательный компонент входит в состав многих видов соединительной ткани.

Hyal. вырабатывается многими паразитарными гельминтами и вызывает патологические изменения в организме хозяина. Настоящий фермент является фактором патогенности и агрессивности гельминтов. Hyal., выполняя протективную функцию для паразитарных

гельминтов, «облегчает» проникновение и распространение их в инфицированном организме. HyaI. играет важную роль в патогенезе многих паразитарных болезней.

Целью настоящей работы было экспериментальное изучение антигенных свойств и усиление иммунитета на HyaI. при помощи иммуноадыювантов.

Материал и методы

В экспериментах были использованы мыши-гибриды **(CBAxС57Bl/6)F1** с массой 18-24 г. В качестве антигена использовали HyaI. фирмы «Serva Finebiochem.». HyaI. растворяли 0,9% растворе NaCl. Мышей примировали в следующих вариантах: HyaI., HyaI. в комплексе с полиоксидонием (ПО), HyaI. в комплексе сульфатом декстрана (СД) («Sigma Chem. Co»), эмульсией HyaI. в полном адыюванте Фрейнда (ПАФ, «Calbiochem») подкожно в основание хвоста. Спустя 1 месяц повторяли иммунизацию, которая была аналогична первичной, из расчёта 10 мкг HyaI./ мышь. Доза СД составляла 300 мкг, ПО - 200 мкг на мышь. Количество специфичных к HyaI. антител классов М и G, а также их изотипов определяли в сыворотках мышей методом иммуноферментного анализа (ИФА) в варианте A.Voller (1980). Для исследования динамики антителообразования одновременно исследовали методом ИФА все сыворотки, полученные спустя 1, 2, 3 и 4 недели после первой, а также после повторной иммунизации.

Результаты исследований

Исследования показали, что HyaI. обладала низкими иммуногенными свойствами (ИФА-титры в динамике изменялись от 1:100 до 1:300). Иммунизация мышей комплексом HyaI.+СД приводила к индукции антителогенеза, специфичного к HyaI., в десятки раз более интенсивного, нежели при введении одного лишь антигена HyaI. После однократной иммунизации синтез антител характеризовался ИФА-титром 1:900 (пик ответа на 2 нед.). Вторичная продукция антител (в основном IgG-типа) повышалась в 90 раз до значений ИФА-титров 1:25000 (пик ответа приходился на 1 нед. после реиммунизации). Спектр изотипов антител к HyaI. был следующим: IgG1 (ИФА-титр до 1:12000) > IgG2a (ИФА-титр до 1:5000) > IgG2b (ИФА-титр до 1:2000) > IgM (ИФА-титр до 1:200).

Одновременное введение мышам HyaI. в составе ковалентного комплекса с поликатионом полиоксидонием (HyaI.+ПО) стимулировало только вторичный антительный ответ – от 5 до 20 раз (ИФА-титры до 1:2000 – 1:6000) с достижением максимального ответа на 1 нед. после реиммунизации. При этом доминировали антитела изотипа IgG1 (ИФА-титр до 1:2000), появлялись антитела изотипа IgG2b (ИФА-титр до 1:100), а антитела других изотипов вообще не продуцировались и в методе ИФА не регистрировались (фоновый уровень).

Использование в качестве репера положительного контроля ПАФ к HyaI. индуцировало у мышей интенсивную продукцию антител уже при первичном иммунном ответе - ИФА-титр до 1:4000 с достижением пика ответа на 4 нед. Вторичный синтез специфических антител был еще более значительным по сравнению с первичным. При этом наблюдали 200-кратное увеличение специфического синтеза IgG по сравнению с ответом на антиген HyaI. (ИФА-титры – 1:25000 – 1:52000), своего максимального уровня IgG достигали на 4 нед. вторичного ответа. Под влиянием ПАФ продуцировались антитела всех изотипов антител к HyaI., причем их концентрации были несколько выше по сравнению с таковыми показателями группы HyaI.+СД.

В данной группе был выявлен следующий спектр изотипов антител к HyaI.: IgG2a (ИФА-титр до 1:12000) > IgG1 (ИФА-титр до 1:7000) > IgG2b (ИФА-титр до 1:3000) > IgM (ИФА-титр до 1:700).

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что полианион СД в дозе 300 мкг/мышь действительно оказывает значительное иммуноадыювантное действие на иммунную систему мышей в отношении антигена НyaI. И что, особенно, важно, НyaI. – очень слабый иммуноген для мышей-гибридов вышеприведенной линии: даже двукратная иммунизация мышей НyaI. не способствовала у них заметного синтеза антител к НyaI. При введении мышам комплекса НyaI.+СД можно у последних индуцировать интенсивные гуморальные реакции по сравнению с ответом только на антиген НyaI. (без адыюванта).

Поликатион ПО в составе комплекса с НyaI. также был способен повысить специфическую гуморальную реакцию на НyaI., однако уровень продуцирующихся при этом антител IgG-класса значительно уступал таковым значениям двух других групп – НyaI.+СД и НyaI.+ПАФ.

Таким образом, в отличие от поликатиона ПО полианион СД оказался более эффективным иммуноадыювантом к НyaI. Он индуцировал высокий уровень антител иммунной реакции у мышей, специфичной в отношении к НyaI. По своим иммуногенным характеристикам СД приближался к действию, оказываемому ПАФ. Полученные теоретические данные могут быть использованы в практическом здравоохранении и в ветеринарии, например, при создании эффективной защиты против паразитов-гельминтов.

ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ПРОТИВОКОКЛЮШНЫХ АНТИТЕЛ В СЛЮНЕ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ПО СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИМ ПОКАЗАНИЯМ ИФА

А.Н. Савинова, Ю.В. Валеева

ГБОУ ВПО «Казанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
г.Казань

Применение иммуноферментного анализа (ИФА) позволяет выявить титры противокклюшных антител в сыворотке крови больных. Нами была доказана возможность выявления противокклюшных антител в слюне больных с использованием той же иммуноферментной тест-системы.

Причем наиболее информативным является выявление в слюне антител к ЛПС антигену коклюшного микроба.

Определение методом ИФА титров противокклюшных антител в биологических жидкостях является относительно трудоемким способом, требующим времени на разведение исследуемого материала. Тогда как способ оценки иммуноферментной реакции по спектрофотометрическим показаниям в единицах оптической плотности, предусматривающий оценку интенсивности окрашивания субстрата в лунках с начальным разведением исследуемого материала, лишен этих недостатков.

Целью исследования было изучение возможности оценки содержания противокклюшных антител в слюне и сыворотке крови больных по спектрофотометрическим показателям ИФА в лунках с начальным разведением.

Материалы и методы. С диагностической целью было обследовано 36 человек (33 ребенка и 3 взрослых) на различных сроках болезни от 1 до 15 недели. Из них 22 человека были привиты

АКДС вакциной, не привитых было 14. Последнюю прививку получили за 1-3 года и более. Парные образцы слюны и сыворотки крови забирали с интервалом в 2 недели.

Определяли содержание антител к 3 антигенным фракциям коклюшного микроба: ЛПС, белку и дезинтеграту методом ИФА.

Содержание антител в слюне и сыворотке крови больных коклюшем определяли в титрах, а также по спектрофотометрическим показаниям в лунках с исходным разведением исследуемого материала.

Результаты и обсуждение. Достоверных различий в концентрации антител в слюне к отдельным компонентам возбудителя коклюша на всех сроках исследования не наблюдалось, так же, как при подсчете титров антител.

Динамика показателей оптической плотности, в основном, соответствовала динамике титров антител.

На 6 неделе от начала болезни было отмечено достоверное нарастание концентрации антител в слюне больных коклюшем к ЛПС антигену, на последующих (7-10 недели) сроках наблюдалось снижение уровня антител.

Концентрация антител в слюне больных к белковому антигену и дезинтеграту микробной клетки достоверно возросла к 3 неделе болезни, затем несколько снизилась на 4 неделе и вновь существенно повысилась, достигнув максимума, на 6 неделе болезни. На последующих сроках болезни (к 9 неделе) уровень антител понизился и в дальнейшем незначительно колебался, не отличаясь от исходного уровня.

Содержание антител в сыворотке крови больных коклюшем также было выражено в показателях оптической плотности.

Статистически достоверной разницы в спектрофотометрических показаниях, отражающих уровень антител к липополисахаридному, белковому антигенам и дезинтеграту коклюшного микроба в крови больных на всех сроках исследования не наблюдалось.

Однако абсолютные величины оптической плотности для антител к ЛПС антигену в сыворотке крови больных с 1 по 9 неделю болезни были выше, чем к двум другим антигенам.

Динамика показателей оптической плотности для антител ко всем 3 антигенным фракциям в крови больных была однотипной. Нарастание уровня антител отмечалось на 4 неделе болезни, затем наблюдались незначительные колебания, максимальная концентрация антител в крови ко всем 3 компонентам коклюшного микроба отмечалась на 8 неделе болезни.

Уровень антител в крови больных коклюшем к ЛПС, белковому антигену и дезинтеграту на всех сроках исследования был существенно выше, чем в слюне.

Заключение. Сопоставление двух способов оценки содержания антител, выявленных методом ИФА у больных коклюшем, показало, что динамика накопления антител в слюне и сыворотке крови, выраженная в показателях оптической плотности и в титрах, была аналогичной. Концентрация антител к отдельным антигенам коклюшного микроба, измеренная в показателях оптической плотности, на всех сроках исследования соответствовала спектру антител, выраженных в титрах.

Кроме того, способ определения уровня антител по спектрофотометрическим показателям только в лунках с начальным разведением исследуемого материала обладает большей информативностью. Он позволил в большей мере выявить достоверность различий в показателях динамики накопления антител на различных сроках к отдельным антигенным фракциям коклюшного микроба и в спектре антител на каждом сроке исследования.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ГЛУБОКИХ ПИОДЕРМИЙ ЛИЦА

О.Е. Торгашова

ГБОУ ВПО «Казанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
г.Казань

В литературе проблеме лечения воспалительных заболеваний мягких тканей лица уделяется значительное внимание, но, несмотря на это, она продолжает оставаться актуальной. Данное положение связано с большим числом больных с фурункулами и карбункулами лица за последние годы, с увеличением степени тяжести клинического течения заболеваний. Увеличивается количество атипично развивающихся, вялотекущих форм воспалительных заболеваний со склонностью к хронизации и рецидивированию, что сопровождается ростом местных и общих осложнений.

Острые гнойно-некротические заболевания в области лица протекают значительно тяжелее, чем при других локализациях, сопровождаются осложнениями опасными для жизни больного. Своеобразная клиническая картина, частота осложнений фурункулов и карбункулов лица зависят от особенностей анатомического строения и взаимоотношения тканей и органов этой области.

Одним из основных патогенетических моментов в развитии воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области, определяющим распространение воспалительного процесса, степень повреждения мягких тканей лица и угрозу возникновения сосудистых осложнений, является нарушения регионарной гемодинамики. Несмотря, на имеющиеся в распоряжении хирургов-стоматологов методы лечения фурункулов и карбункулов лица летальность при данной патологии колеблется до 8%, а различного рода осложнения фурункулов и карбункулов составляют до 36,8% от общего числа наблюдений. Данные обстоятельства требуют патогенетического подхода к терапии этих заболеваний, поиска более эффективных методов лечения. В настоящее время озонотерапия с успехом применяется в хирургии, терапии, акушерстве и гинекологии. Обоснованием такого широкого использования озона служат его физико-химические и биологические свойства, определяющие бактерицидный, фунгицидный, вирицидный, дезинтоксикационный, антигипоксический, иммуномодулирующий эффекты, улучшение реологических свойств крови. В связи с чем, определенный интерес представляет изучение влияния озонированных кристаллоидов на эффективность патогенетического лечения исследуемой патологии.

Цель исследования: изучить регионарную микроциркуляцию у больных с фурункулами и карбункулами лица и влияние медицинского озона в комплексном лечении.

Информацию о состоянии кровотока на тканевом уровне и мониторинг состояния микроциркуляции в области гнойной раны получали методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) при помощи аппарата ЛАКК-01 (НПП «Лазма»). Исследование МЦ проводилось по стандартной методике в положении лежа на кушетке после 5 минутной стабилизации гемодинамики. Датчик прибора устанавливали на участке кожи лица на 0,5 см от края раны, достигая контакта дистальной части зонда с поверхностью кожи. Исследования проводили на 1, 3, 5-е сутки лечения и при выписке. Основную группу составили 20 больных, которым в дополнение к традиционной терапии проводилась озонотерапия в виде внутривенных инфузий

озонированного 0.9% раствора хлорида натрия по 400 мл через день с концентрацией озона в растворе 1,5-2,5 мг/л. Контрольную группу составили 20 больных, которым проводилось комплексное лечение без озонотерапии. Схема стандартного комплексного метода лечения, заключалась во вскрытии фурункула линейным разрезом под местной инфильтрационной анестезией и в дальнейшем ежедневными перевязками раны с обработкой краев раствором антисептика, заменой дренажа и наложением повязки с бальзамическим линиментом по Вишневскому. Медикаментозное лечение состояло из применения антибиотиков широкого спектра действия (ампициллин, гентамицин, амикацин) в среднетерапевтических дозах, внутримышечно в течение 5-7 дней, назначения анальгетиков, противовоспалительных препаратов и УВЧ-терапии.

Анализ результатов исследования выявил, что реакция микроциркуляторного русла коррелирует с фазой течения воспалительного процесса и угрозой развития сосудистых осложнений. Интегральная характеристика капиллярного кровотока представляющая собой показатель микроциркуляции (ПМ) в области здоровой кожи составила в среднем $5,6 \pm 0,27$ перф.ед. При анализе данных ЛДФ в зоне воспалительного процесса до хирургического вмешательства в контрольной и основной группах регистрировались высокие значения ПМ до $14,5 \pm 0,31$ перф.ед. При анализе доплерограмм на 1 сутки после вскрытия гнойного очага отмечено повышение значений ПМ до $14,8 \pm 0,34$ перф.ед., что свидетельствует о выраженных нарушениях в системе микроциркуляции в области гнойной раны. В основной группе к 3 суткам заболевания на фоне проводимой озонотерапии ПМ значительно снижался до $10,3 \pm 0,23$ перф.ед., в то время как, в контрольной группе регистрировались показатели $11,9 \pm 0,26$ перф.ед. Показатель сосудистого тонуса достоверно приближался к норме уже на 3-и сутки, амплитуда вазомоций нормализовывалась на 3-и сутки. Эффективность работы микроциркуляторного русла у больных нормализовалась к 5-м суткам исследования. Амплитуда А волн / ПМ *100% и амплитуда В волн / ПМ *100% достоверно увеличивались в основной группе, по сравнению с контрольной. К 5-6 суткам в основной группе наблюдалось полное стихание воспалительных явлений, появление грануляций и краевая эпителизация. В контрольной группе данные процессы регистрировались только на 7-8 день. К моменту выписки у больных основной группы отмечалась нормализация показателей микроциркуляции, а в контрольной группе к выписке значения ПМ не достигали значений нормы. Нормализующее влияние медицинского озона на систему микроциркуляции обусловлено влиянием на факторы местной регуляции сосудистого тонуса за счет выделения эндотелиоцитами «эндотелиальных факторов расслабления сосудов», дезагрегационными свойствами озонированных растворов посредством изменения заряда мембраны эритроцитов, а следовательно, нормализацией кровотока в нутритивном звене и снижением гипоксии тканей.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что использование озонированных растворов в терапии больных с фурункулами и карбункулами лица на фоне комплексного лечения способствует более быстрому стиханию выраженных микроциркуляторных изменений в тканях челюстно-лицевой области, что отражается на течении воспалительного процесса в гнойной ране, усилении репаративно-пролиферативных процессов в области поражения и выздоровлении больных.

ИНГИБИТОРЫ ОБРАЗОВАНИЯ БИОПЛЕНОК БАКТЕРИЯМИ *B.SUBTILIS* НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ ФУРАНОНОВ И ПИРРОЛИНОВ

Э.Н. Хакимуллина, Е.Ю. Тризна, А.Р. Курбангалиева, А.Р. Каюмов

ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г.Казань

Биопленки – очень тесно приросшее к субстрату сообщество дифференцированных микробных клеток, заключенных в полисахаридный матрикс. Недавно было показано, что бациллы способны образовывать смешанные биопленки с патогенными бактериями и тем самым повышать их устойчивость к бактерицидным препаратам. В составе биопленок устойчивость бактерий к лекарственным средствам и иммунной системе человека многократно возрастает, что вызывает необходимость разработки средств их подавления. На роль таких лекарственных средств претендуют галогенизированные фураноны, которые подавляют рост бактерий, и действуют в концентрациях (5 мкг/мл) не токсичных для эукариот.

Целью работы явилось провести скрининг соединений на основе фуранона и пирролина, способных подавлять образование биопленок клетками *Bacillus subtilis*. Нами были протестированы 103 фуранона и 39 пирролина. В результате проведенного скрининга были отобраны соединения, подавляющие рост и образование биопленок более чем на 20% - соединения с условными номерами фураноны 12, 15, 29, 94, 101 и пирролины 21 и 22. Было установлено, что эти соединения эффективно подавляют рост и образование биопленок *B. subtilis* уже при концентрациях 5-10 мкг/мл.

Далее была исследована цитотоксичность этих соединений на клетках линии MCF7 (рак молочной железы) и фибробластах человека. Был проведен МТС-тест и определены концентрации соединений, снижающие активность митохондриальной дегидрогеназы на 50%. Из исследованных 7 соединений фуранон 94 не оказывал токсического эффекта на клетки MCF7 и фибробласты. Исследования цитостатического эффекта проводили путем микроскопирования и подсчета количества клеток. Было установлено, что фураноны 94 и 101 не влияют на морфологию раковых клеток молочной железы при конц 10 мкг/мл, при которой образование биопленок снижалось в 5 раз. В случае фибробластов они не оказывали влияния при концентрациях до 10 мкг/ мл. Следовательно, фураноны 94 и 101 можно считать перспективными соединениями для использования для подавления образования биопленок клетками бацилл.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 14-04-31635 мол_а.

МОНИТОРИНГ УСТОЙЧИВОСТИ *HELICOBACTER PYLORI* К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ, ПРИМЕНЯЕМЫМ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ЭРАДИКАЦИОННОЙ ТЕРАПИИ.

П. Е. Гуляев

ГБОУ ВПО “Казанский государственный
медицинский университет” Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
г. Казань

Установление этиологической значимости *Helicobacter pylori* в развитии заболеваний желудка и 12-перстной кишки существенно изменило представление о патогенезе этих патологий и позволило разработать новые методы их лечения и профилактики.

Изучение свойств хеликобактеров и их влияния на макроорганизм продолжается уже более 20 лет. За это время было разработано большое количество методов диагностики и лечения, а так же появляются новые лекарственные препараты, направленные на эрадикацию возбудителя. Однако, до сих пор не существует оптимального метода лечения, который подошёл бы каждому пациенту. Во многом это связано с распространением множественной устойчивости к препаратам, применяемым в эрадикационной терапии. Причин формирования резистентности достаточно, но одной из главных остаётся нерациональное применение антибактериальных средств. При изучении свойств *H.pylori* было показано, что клинические изоляты чувствительны к макролидам, аминогликозидам, β-лактамам и ряду других антибактериальных препаратов.

При проведении эрадикационной терапии отдают предпочтение препаратам, обладающим кислотоустойчивостью и воздействующие на микроаэрофильную флору. В современных схемах лечения широко используют полусинтетический производный антибиотик пенициллинового ряда — амоксициллин. Он устойчив в кислой среде желудка, практически не влияет на микробиоценоз кишечника, разрешен к применению у детей различного возраста. Несмотря на многолетний опыт применения этого антибиотика в схемах эрадикационной терапии, резистентность штаммов *H.pylori* к нему практически не развивается.

Другой группой антибиотиков, широко используемых в эрадикационной терапии являются макролиды. Для лечения заболеваний, вызванных хеликобактерами, чаще используют кларитромицин. Этот антибактериальный препарат обладает высокими кислотоустойчивыми качествами, он активен по отношению к *H.pylori*. При сочетании макролидов с ингибиторами протонной помпы значительно увеличивается биодоступность этих антибиотиков, что позволяет снижать дозировку и длительность курса терапии. Однако вследствие широкого применения кларитромицина, появились штаммы, резистентные к данному антибиотику.

Стоит отметить ещё одну группу препаратов, которые широко применяются при проведении эрадикационной терапии - нитроимидазолы. К ним относят метронидазол и тинидазол. Мишенью действия для этих препаратов является бактериальная ДНК. В связи с широким применением этих препаратов как в моно, так и в двойной терапии, резко увеличилось количество резистентных к ним штаммов.

На сегодняшний день существует несколько схем лечения *H.pylori* - ассоциированных заболеваний. Выбор схемы лечения зависит от уровня резистентности. Так, например, в странах Европы снижение эффективности эрадикационной терапии связано с ростом резистентности

H.pylori к кларитромицину, который использовали для лечения инфекции *H.pylori* в начале 90-х годов прошлого столетия.

В настоящее время существует несколько методов определения резистентности штаммов *H.pylori* к антибиотикам. Для диагностики *H.pylori* инфекций применяют различные методы. Их подразделяют на инвазивные и неинвазивные методы. Инвазивные делят на прямые (гистологический метод, молекулярно-генетический метод) и непрямые (быстрый уреазный тест). К неинвазивным методам относят иммунологические методы (выявление антител класса IgG) и биохимические методы (уреазный дыхательный тест с ^{13}C -мочевинной). По данным Маастрихт IV, преимущество в первичной диагностике и контроле за результатами терапии отдается неинвазивным методам. В свою очередь наличие резистентности возможно определить с помощью культуральных и молекулярных методов. К культуральным относят: метод разведений в жидких питательных средах, диско-диффузионный метод, Е-тест и метод серийных разведений на твердых питательных средах. К молекулярным методам относят: анализ полиморфизма длины рестрикционных фрагментов продуктов ПЦР, гибридизация с олигонуклеотидными зондами и ПЦР в реальном времени. Эти три метода используют для определения резистентности *H.pylori* к кларитромицину. Существуют методы для определения резистентности и к другим антибиотикам, так, например, с помощью серологического метода можно определить наличие резистентности к метронидазолу, путем обнаружения белка RdxA, являющегося маркером гена резистентности к данному антибиотику.

В настоящее время по всему миру отмечается тенденция к увеличению числа штаммов *H.pylori*, резистентных к применяемым препаратам. Это в свою очередь негативно влияет на эффективность лечения, понижая шанс успешной эрадикации. Возможно, разработка новых лекарственных препаратов и методов диагностики положительно скажется на эффективности эрадикационной терапии, способствуя быстрому и окончательному выздоровлению больных

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ ЧИСТОТЫ РУК УЧАЩИХСЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО КОЛЛЕДЖА ДО И ПОСЛЕ ЗАНЯТИЙ

А.А. Закирова, С.Н. Мамедова, Г.З. Хабирова, Е.Р. Фёдорова

ГБОУ ВПО «Казанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
г. Казань

Руки – это «медицинские инструменты», которыми пользуются чаще всего. Однако эти же руки могут стать фактором передачи кишечных инфекций и причиной ВБИ. Колонизация бактериальной флорой рук медицинских работников происходит при контакте с кожей пациентов, особенно при контакте с раневой поверхностью или зоной воспаления. Контактная передача происходит при нарушении правил обработки и дезинфекции.

Целью настоящего исследования явилась оценка степени чистоты рук учащихся до и после занятий, так же мы хотели подчеркнуть необходимость тщательного соблюдения личной гигиены, её роль в передаче кишечных инфекций и ВБИ

Метод исследования: экспериментальное выявление колиформных бактерий методикой посева смывов с рук.

В исследовании приняли участие 50 учащихся. Из них 30 не мыли руки во время занятия – они составили I группу. А 20 вымыли руки во время занятия – II группа.

Смывы производились с поверхности рук дважды: до и после занятия. Взятие смывов производилось с помощью стерильных ватных тампонов, смоченных стерильным физиологическим раствором. Тампоном протирали ладонные поверхности обеих рук, проводя не менее 5 раз по каждой ладони и пальцам, затем протирали межпальцевые пространства.

Для выявления кишечной палочки производился посев смывов на среды Кода (каждый тампон и остатки смывной жидкости помещались в отдельную в пробирку со средой). Посевы подвергались инкубации в термостате при 37 °С в течение 24 ч. В случае изменения окраски среды или её помутнения, свидетельствующих о наличии бактерий группы кишечной палочки, производился высев на плотную дифференциальную среду Эндо. Затем посевы помещались в термостат на 24 ч при температуре 37 °С, после чего просматривались на предмет обнаружения колоний, подозрительных или типичных для бактерий группы кишечной палочки. Обнаружение в окрашенных по Граму мазках грамотрицательных палочек указывает на наличие колиформных бактерий.

В результате исследования в первой группе кишечная палочка до занятия была обнаружена у 10% (3 человека) учащихся, а после занятия у 13% (4 человека), что может быть обусловлено тем, что один человек во время занятия посетил туалетную комнату и не вымыл руки. Во второй группе до занятия кишечная палочка была обнаружена у 15% (3 человека), а после занятия, в связи с тем, что они мыли руки, у всех отсутствовала.

Наличие кишечной палочки на поверхности рук свидетельствует о фекальном загрязнении, которое также может сопровождаться присутствием других патогенных бактерий, передающихся фекально–оральным механизмом, что делает исследуемого потенциальным источником заражения окружающих. И к важнейшему фактору риска контактной передачи возбудителей ИСМП относятся руки медицинского персонала, которые могут стать источником таких кишечных инфекций как: брюшной тиф, сальмонеллёз, дизентерия, холера. С этим фактором связывают до 50-70% возникновения всех ИСМП. И несмотря на то что, в современных больницах используются новые стандарты чистоты, оборудуются стерильные операционные, изобретаются специальные материалы для отделки полов и стен, создаются очистительные и вентеляционные конструкции, важнейшим источником ВБИ по-прежнему остаются руки медицинского персонала, поэтому крайне важно, что все, в том числе и будущие медицинские работники, знали как правильно мыть руки, как одевать и снимать стерильные перчатки и никогда не пренебрегали этими правилами.

Исходя из проведённого исследования и обзора литературы мы можем сделать следующие выводы:

- Чистота рук избавляет от кишечной палочки и других патогенных бактерий на руках
- Медицинским работникам нужно обязательно мыть и дезинфицировать руки после каждого контакта с пациентом, соблюдая все правила, чтобы не стать источником кишечной инфекции и ВБИ

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ: ПРИЧИНЫ И ПУТИ ПРЕОДОЛЕНИЯ.

С.Н. Мамедова, Ю.В. Валеева

ГБОУ ВПО «Казанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
г. Казань.

Колоссальной проблемой антибиотикотерапии является существование резистентных видов и штаммов бактерий. Число их растет пропорционально расширению области применения антибактериальных препаратов и создает значительные затруднения в терапии бактериальных инфекций.

Антибиотикорезистентность может быть обусловлена различными факторами. Природная (постоянная, не прогрессирующая) устойчивость бактерий к антибиотику, как правило, связана с:

- 1) отсутствием у микроорганизма структуры (мишени), на которую направлено действие антибиотика (так, бактерии рода *Mycoplasma* не имеют клеточной стенки и потому нечувствительны к β -лактамам антибиотикам, механизм действия которых основан на ингибировании синтеза её компонентов; однако они восприимчивы к полиеновым антибиотикам, которые, в свою очередь, неэффективны в отношении других бактерий в связи с отсутствием у них стерина в ЦПМ)
- 2) недоступностью мишени для антибиотика (грамотрицательные бактерии устойчивы к бензилпенициллину благодаря непроницаемости для него дополнительной мембраны, окружающей клеточную стенку)

Гораздо более угрожающей является приобретенная устойчивость бактерий к антибиотикам. Их материальная основа – мутации и генетические рекомбинации в геноме бактерий. Гены, контролирующие резистентность, могут быть локализованы в бактериальной хромосоме, R-плазмиде, транспозонах, могут входить в состав профагов. Чаще всего эти гены передаются плазмидами и транспозонами в результате генетических рекомбинаций (конъюгации, трансформации, трансдукции), что ведёт к быстрому распространению устойчивости внутри вида и между видами бактерий. В случае если R-плазмиды содержат одновременно несколько генов, контролирующих устойчивость к различным препаратам, происходит возникновение полирезистентных штаммов. Основные механизмы реализации приобретенной устойчивости:

- 1) Модификации структуры мишени (например, мутации генов, кодирующих структуру белков субъединиц рибосом, способны приводить к возникновению устойчивости к антибиотикам, действующим на уровне трансляции, - макролидам, аминогликозидам и др. Фторхинолоны теряют активность в отношении бактерий с измененной структурой фермента ДНК-гиразы, неэффективность β -лактамов может быть обусловлена изменением в строении пенициллинсвязывающих белков в структуре клеточной стенки).
- 2) Приобретенная недоступность мишени, связанная с изменением проницаемости клеточных структур для препарата (например, мутации белков-порин клеточной стенки) или его активным выведением из клетки (характерный механизм устойчивости к тетрациклинам).

3) Образование бактериальных ферментов, инактивирующих или модифицирующих антибиотики (так, β -лактамазы разрушают β -лактамное кольцо антибиотиков с образованием неактивных соединений, трансферазы способны изменять функциональные группы (ацетилировать, фосфорилировать) некоторых препаратов (аминогликозиды, макролиды, линкозамиды) и, соответственно, лишать их антибактериальной активности).

Шокирующий рост числа антибиотикорезистентных штаммов заметно снижает эффективность проводимого лечения и заметно сокращает диапазон выбора лекарственных препаратов в клинической практике. Кроме того, производство антибиотиков становится экономически невыгодным для фармацевтических компаний. Процесс создания нового препарата, его исследование и внедрение в медицинскую практику занимает в общей сложности 15-20 лет и включает несколько стадий (разработка действующего вещества, лабораторные испытания на животных, исследование безопасности и эффективности препарата с участием добровольцев). Разумеется, для фармацевтической компании каждый этап связан со значительными материальными затратами, которые впоследствии должны окупаться в процессе реализации готового лекарства. Однако, учитывая тот факт, что антибиотикорезистентность способна развиться за 2-3 года после внедрения препарата в клиническую практику и сделать бесполезным его широкое применение, нетрудно отметить невыгодность вложения средств в разработку новых антибиотиков.

Одной из наиболее важных причин развития антибиотикорезистентности – нерациональная антибиотикотерапия. Основные ошибки, как правило, связаны с:

1. Отсутствием данных бактериологических анализов, направленных на точное установление возбудителя и его чувствительности к различным антибиотикам (антибиотикограмма). Как следствие – злоупотребление антибиотиками широкого спектра действия
2. Несоблюдением длительности применения препарата и его дозировки: превышение необходимой длительности лечения либо преждевременное его прекращение; введение доз меньших, чем минимальная терапевтическая доза.
3. Назначением ряда лекарственных препаратов без учёта лекарственных взаимодействий, что ведёт к усилению нежелательных побочных эффектов и ослаблению эффективности лечения.
4. Назначением антибиотиков при вирусных инфекциях без должных показаний (наличие осложнений бактериальной природы)
5. Отсутствием данных по циркуляции антибиотикорезистентных штаммов в данном регионе, отсутствием должного учёта возбудителей внутрибольничных инфекций.

Всё перечисленное способствует неполному уничтожению популяции бактерий в макроорганизме и приспособлению её к применяемому антибиотику путем мутаций и генетических рекомбинаций.

Кроме того, значительную роль в формировании устойчивости играют:

1. Несоблюдение пациентом рекомендаций по дозировке препарата и длительности его применения
2. Самолечение
3. Свободный отпуск антибактериальных препаратов в аптеках

Кроме того, не последнее значение имеет и необоснованное расширение области применения антибиотиков в сельском хозяйстве (для ускорения прироста мясной массы

выращиваемых сельскохозяйственных животных), добавление антибиотиков в продукты питания в качестве консерванта, а так же использование антибактериальных веществ в качестве дезинфицирующего агента в моющих средствах.

Обзор наиболее значимых причин возникновения антибиотикорезистентных штаммов позволяет наметить ряд мероприятий, направленных на замедление и контроль этого процесса.

1. Перед назначением лечения проводить анализы на точное установление возбудителя и его чувствительность к различным антибиотикам. В случае тяжелого состояния больного уточнение этиологии заболевания и коррекция первоначально назначенной терапии должны своевременно проводиться в ходе лечения.

2. Более предпочтительным является использование современных комбинированных препаратов (например, включающих ингибиторы β -лактамаз), комбинированных препаратов с разными мишенями действия. Отдельного внимания заслуживает комбинированная антибиотикотерапия, подразумевающая одновременное использование двух (и более) антибактериальных препаратов с синергидным действием. Такой подход способен значительно повышать эффективность лечения и нивелировать развитие устойчивости бактерий к каждому отдельному препарату. Однако подбор оптимальных комбинаций требует тщательного анализа: побочный эффект применения нескольких антибиотиков сразу может превышать сумму таковых у каждого препарата в отдельности. Не рекомендуется совмещение бактериостатических и бактерицидных препаратов: замедление бактериостатическим антибиотиком синтеза компонентов бактериальной клетки, являющихся мишенью для бактерицидного средства, резко снижает эффективность последнего.

3. Определять оптимальную дозировку и продолжительность лечения

4. Не допускать применения антибиотиков без достаточных показаний

5. Медицинским работникам необходимо в доступной форме информировать пациента о целесообразности назначения препарата, о важности точного соблюдения указаний врача

6. Проводить строгий учёт случаев внутрибольничных инфекций, микробиологическое изучение выделенных штаммов на предмет чувствительности к антибиотикам

7. Не допускать использования антибиотиков медицинского назначения в качестве консервантов или добавок в корма животных

8. Изучать циркуляции резистентных штаммов в регионе и информировать о данных, полученных в ходе подобных исследований, врачей с целью рационального выбора препарата; иметь антибиотики резерва. (Первое многоцентровое исследование резистентности бактерий (пневмококков, гемофильной палочки и стрептококков группы А) начато в России в декабре 1998 г. (проект ПеГАС) и продолжается в настоящее время).

Одним из приоритетных направлений на данный момент является изучение комбинированных антимикробных препаратов, сочетающих в своем составе современный антибиотик и ADEP-4 – вещество, способное активировать фермент протеазу в клетках-персисторах (находящихся в «спящем режиме» и недоступных для обычных лекарственных средств). Активные исследования в этой области принадлежат группе ученых во главе с Кимом Льюисом (Северо-восточный университет, Бостон). В каждой бактерии, в том числе в клетках-персисторах, имеется протеаза, способная распознавать и расщеплять дефектные белки. ADEP-4 активирует ClpP. ADEP4 сам по себе обладает антимикробной активностью, однако не совсем

достаточной для полного уничтожения бактериальных колоний. Но при совместном использовании этого вещества со стандартными антибиотиками (например, рифампицином), его активность значительно повышается (так, в эксперименте на лабораторной мыши, тяжелая форма стафилококковой инфекции, вызванной антибиотикорезистентным штаммом, была полностью излечена за сутки). Ученые отмечают: чтобы выработать устойчивость к антибиотику на основе ADEP4, бактериям нужно отказаться от ClpP, полноценная жизнь клетки без нее затруднительна.

Другим интересным направлением является изучение активности синтетических антимикробных пептидов, сконструированных путем лингвистического анализа - сочетания различных последовательностей аминокислот, взятых из белков, заведомо обладающих бактерицидной и фунгицидной активностью. Антибактериальное действие пептидов проявляется в течение нескольких минут, а их эффективная концентрация в 10 раз меньше таковой у традиционных антибиотиков. Они нетоксичны для здоровых клеток организма и не вызывают аллергических реакций. Считается, что антимикробные пептиды найдут свое применение не только в медицине, но и продовольственной промышленности, заменив применяемые сейчас антибиотики. Они позволят значительно увеличить сроки хранения и повысить безопасность свежих овощей и других продуктов питания.

ВОЗМОЖНОСТЬ ОБЩЕНИЯ МЕЖДУ МИКРООРГАНИЗМАМИ ПОСРЕДСТВОМ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ВОЛН.

К. В. Рязанов, Ю.В. Валеева.

ГБОУ ВПО «Казанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
г.Казань

Бактерии способны испускать и принимать электромагнитные волны. Это обусловлено строением их молекулы ДНК в виде кольца. Так, электроны движутся по замкнутой кольцевой траектории и способны переходить с уровня на уровень, при этом испуская электромагнитный квант. Этот квант и является источником электромагнитного излучения. Такая модель была предложена нобелевским лауреатом 2009 года Луи Монтанье.

Экспериментально такое излучение было фиксировано группой Адама Уидома (США) при сравнении излучений, отходящих от стерильной воды и воды, содержащей бактериальные палочки.

Известно, что наличие вируса или приона даже в случае отсутствия ДНК можно обнаружить по исследованию электромагнитного излучения. В этом случае вирус или прион изменяет ДНК клетки, дополняя или замещая ее и потому вызывая аномальное излучение. Электромагнитное излучение микроорганизмов можно использовать и иначе. Луи Монтанье успешно осуществил трансмиссию РНК. Он осуществил следующий эксперимент. Несколько пробирок – в одну он поместил определенную РНК, в другие – нуклеотиды, из которых состоит экспериментальная РНК – он подверг электромагнитному излучению (7Гц, комн. температура, 18 часов). В результате в пробирках с нуклеотидами посредством ПЦР были обнаружены исходные РНК. Точность копирования: 102 из 104 нуклеотида.

Воздействия электромагнитным полем, изложенные в эксперименте выше, безопасны для человека: с той же частотой, например, происходят природные безвредные резонансы Шумана. Это наталкивает на мысль о том, что исследование человека и лекарственных средств посредством изучения электромагнитного поля в будущем должно стать наиболее востребованным, ведь используемые ныне лекарственные, химические методы помимо своего основного действия также наносят вред здоровью человека.

Одним из примеров использования описанных технологий в будущем может стать диагностика таких заболеваний, как болезнь Альцгеймера или болезнь Паркинсона. Не исключено, что причиной этих заболеваний могут стать те же прионы. На этот факт указывают несколько факторов. Клиническая картина схожа с медленными инфекциями: симптомы проявляются после длительного времени (при этом картина болезни не улучшается), наблюдается деменция. Причина заболеваний также позволяют предположить прионный характер: отклонения в структуре белка, что приводит к патологическим скоплениям в нервных клетках и, как следствие, нарушению их работы.

ЛЕКАРСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ВОЗБУДИТЕЛЯ У ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННЫХ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ В ПЕНИТЕНЦИАРНЫХ УЧРЕЖДЕНИЯХ КРАСНОЯРСКОГО КРАЯ

Н.М. Корецкая¹, В.Ф. Элярт², Ю.Н. Белоусова³

¹ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого»,
г. Красноярск

²Медико-санитарная часть-24 Федеральной службы исполнения наказаний России,
г. Красноярск

³Туберкулезная больница-1 медико-санитарной части-24 Федеральной службы исполнения наказаний России,
г. Красноярск

Несмотря на значительное снижение показателей заболеваемости туберкулезом и повышение эффективности лечения впервые выявленных больных, эпидемиологическая ситуация по туберкулезу в пенитенциарных учреждениях России остается напряженной. В значительной мере это связано с ростом лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза (МБТ) и прежде всего множественной среди больных из числа спецконтингента учреждений уголовно-исполнительной системы.

Наличие у больного туберкулезом легких лекарственной устойчивости МБТ имеет не только клиническое и эпидемиологическое, но и большое экономическое значение, так как лечение таких больных обходится намного дороже, чем больных с МБТ, чувствительными к противотуберкулезным препаратам.

В этой связи одной из важных задач и особенно в условиях пенитенциарной системы, является выявление больных лекарственно-устойчивым туберкулезом легких и назначение им адекватного лечения.

Как известно, первичная лекарственная устойчивость МБТ свидетельствует о заражении резистентным штаммом МБТ. В связи с этим первичная экзогенная устойчивость характеризует состояние микобактериальной популяции, циркулирующей в конкретном регионе, и ее показатели важны для оценки степени напряженности эпидемической ситуации и выработки стандартных режимов химиотерапии, а также необходим учет этих показателей при закупке и поставке противотуберкулезных препаратов для лечения больных.

Целью исследования явилось изучение частоты, спектра и структуры первичной лекарственной устойчивости МБТ у больных, впервые выявленных в условиях пенитенциарных учреждений Красноярского края и находящихся на стационарном лечении в туберкулезной больнице-1 МСЧ-24 ФСИН России.

Материалы и методы

Материалом исследования явились картограммы 102 больных туберкулезом легких, находящихся на стационарном лечении в туберкулезной больнице-1 МСЧ-24 ФСИН России в 2012 году.

Все больные были впервые выявлены и являлись бактериовыделителями. Бактериовыделение установлено путем посева мокроты на питательную среду Левенштейна-Йенсена.

Исследование лекарственной чувствительности штаммов МБТ проводили стандартным непрямым методом абсолютных концентраций. Определяли частоту лекарственной устойчивости, ее структуру и спектр. Изучали лекарственную чувствительность к препаратам основного (изониазиду, рифампицину, этамбутолу и стрептомицину) и резервного ряда (этионамиду, канамицину, ПАСК и фторхинолонам).

В структуре лекарственной устойчивости МБТ учитывали монорезистентность, полирезистентность (устойчивость к двум препаратам и более, за исключением одновременной устойчивости к изониазиду и рифампицину), множественную лекарственную устойчивость – устойчивость по крайней мере к изониазиду и рифампицину и широкую лекарственную устойчивость – сочетание множественной лекарственной устойчивости с резистентностью к фторхинолонам и одному из инъекционных антибиотиков резервного ряда.

Результаты исследования

По результатам посева мокроты 102 больных у 30 (29,4%) выявлена лекарственно-чувствительная популяция МБТ; лекарственно-устойчивая популяция микобактерий – у 72 (70,6%). Структура лекарственной устойчивости МБТ была представлена монорезистентностью у 4 (3,9%), полирезистентностью у 16 (15,7%), множественной лекарственной устойчивостью микобактерий туберкулеза – у 49 (48,2%) и широкой, - у 3 (2,9%).

Полирезистентность к препаратам основного ряда имела место у 14 (13,7%) больных; полирезистентность МБТ к препаратам основного и резервного ряда встречалась значительно реже – лишь у 2 (2,0%) больных.

Множественная лекарственная устойчивость МБТ к препаратам основного ряда констатирована у 32 (31,4%) больных, при этом наибольший удельный вес (20,6%) составила комбинация: изониазид, рифампицин и стрептомицин. Множественная лекарственная устойчивость МБТ к препаратам основного и резервного ряда установлена у 17 (16,8%) больных, то есть практически у каждого 6-го больного. При этом наибольшую долю (8,8%) составила следующая комбинация противотуберкулезных препаратов: изониазид, рифампицин, этамбутол и канамицин. Широкая лекарственная устойчивость МБТ обнаружена у 3 (2,9%) больных.

Изучение спектра первичной лекарственной устойчивости МБТ показало, что наиболее высокий удельный вес лекарственной резистентности определялся к препаратам основного ряда: изониазиду – у 65 (63,7%), стрептомицину – у 57 (55,9%), рифампицину – у 55 (53,9%); ниже, – этамбутолу – у 21 (20,6%). Удельный вес лекарственной устойчивости к препаратам резервного ряда был значительно ниже: канамицину – у 5 (4,9%), офлоксацину – у 4 (3,9%), ПАСК – у 2 (2,0%).

Наиболее часто первичная лекарственная устойчивость МБТ встречалась к 3-м противотуберкулезным препаратам – у 25 (24,5%) больных, к 4-м – у 20 (19,6%), к 2-м – у 16 (15,7%); значительно реже к 5-ти – у 5 (4,9%), к 6-ти и 7-ми – по 1 (1,0%).

Таким образом, первичная лекарственная устойчивость МБТ у больных туберкулезом, выявленных в пенитенциарных учреждениях Красноярского края, составляет 70,6% и в ее структуре преобладают множественная лекарственная устойчивость МБТ, которая определяется практически у каждого второго больного (48,2%); реже встречаются поли- (15,7%) и монорезистентность (3,9%). Очень высока первичная лекарственная устойчивость МБТ к препаратам основного ряда: изониазиду – 63,7%, стрептомицину – 55,9%, рифампицину – 20,6%, что делает невозможным применение режимов химиотерапии с использованием этих препаратов более, чем у половины впервые выявленных больных туберкулезом, заболевших в условиях пенитенциарных учреждений Красноярского края. В этой связи для лечения данной категории больных необходимо использовать препараты резервного ряда с целью предотвращения развития индукции лекарственной устойчивости МБТ к большему количеству препаратов. Необходимо также применение ускоренных методов определения лекарственной чувствительности МБТ. С учетом высокой частоты множественной лекарственной устойчивости МБТ для повышения эффективности лечения впервые выявленных больных туберкулезом легких в туберкулезной больнице №1 МСЧ-24 ФСИН России в течение 2-х лет широко используются в комплексе такие методы как клапанная бронхоблокация, лимфотропное введение противотуберкулезных препаратов, наложение пневмоперитонеума.

АПРОБАЦИЯ МЕТОДА ХОДЖ-ТЕСТ, КАК ФАКТОРА ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИБИОТИКОТЕРАПИИ.

Е.А. Кравченко, Р.Г. Ганеева, М.П. Шулаева

ГАУЗ «Елабужская центральная районная больница»
ГБОУ ДПО КГМА, кафедра микробиологии

Карбапенемы являются наиболее эффективными препаратами для лечения тяжелых нозокомиальных инфекций и инфекций, вызванных полимикробной флорой, т. е. возбудителей таких тяжелых патологий, как сепсис, пневмония, перитонит, раневая инфекция.

Бета-лактамазы, продуцируемые многими часто встречающимися возбудителями распространенных инфекций, заслуживают особого внимания в связи с тем, что эти ферменты являются основным фактором устойчивости ко многим, а в некоторых случаях ко всем бета-лактамам антибиотикам, т.е. к пенициллинам, цефалоспорином, монобактамам, карбапенемам, большинства грамотрицательных бактерий. Именно к тем группам антибиотиков, которые являются основными (антибиотиками первого ряда) в лечении тяжелой инфекционной патологии.

Приобретенные карбапенемазы являются важными детерминантами антибиотикорезистентности многих грамотрицательных бактерий, включая энтеробактерии, *Pseudomonas aeruginosa* и другие грамотрицательные неферментирующие бактерии. Эти ферменты принадлежат к молекулярному классу В (металло-β-лактамазы) или молекулярным классам А и D (сериновые карбапенемазы). Гены, кодирующие карбапенемазы, входят в состав мобильных генетических элементов, что способствует их быстрому распространению в госпитальной среде.

Детекция этого механизма резистентности безусловно важна, не только для назначения оптимальной этиотропной терапии пациенту, но и для эпидемиологического контроля распространения резистентных штаммов и разработки мероприятий инфекционного контроля.

В связи с опасностью широкого распространения карбапенемаз возникла необходимость внедрения в рутинную практику лабораторий клинической микробиологии фенотипических методов выявления карбапенемаз грамотрицательных бактерий. Фенотипические тесты могут дать важную информацию еще до проведения более дорогих молекулярно-генетических методов, доступных для использования как правило только в референсных лабораториях. Поэтому в стандарт CLSI (Clinical and Laboratory standard Institute), был включен модифицированный Hodge Test (Ходж-тест).

Цель исследования: провести апробацию модифицированного Ходж теста, для детекции карбапенемаз у микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* и других неферментирующих грамотрицательных микроорганизмов.

Материалы и методы исследования. Работу проводили на базе бактериологической лаборатории ГАУЗ «Елабужская центральная районная больница», с 2012 по 2013 года.

Материалом служило раневое отделяемое, моча, отделяемое половых органов. Отбор и доставку материала осуществляли по соответствующим нормативным документам (приказ Минздрава СССР № 535 от 22.04.85, МУ «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории» № 4.2.2039-05 и рекомендациям ВОЗ). Выделение чистой культуры и определение антибиотикочувствительности проводили в соответствии с действующими стандартами (МУК – 4.2.1890-04 и EUCAST 2012 года). Поскольку наиболее значимым маркером продукции карбапенемаз является устойчивость к карбапенемам, проводили тестирование на наличие приобретенных карбапенемаз у всех выделенных штаммов *P. aeruginosa*, *Acinetobacter spp.* и энтеробактерий, проявляющих сниженную чувствительность или устойчивость к карбапенемам. Для этого использовали в качестве антибиотического компонента именно карбапенемы (меропенем или эртапенем), а в качестве референтного штамма (заведомо чувствительный штамм) *E. coli* (ATCC 25922), т.е. апробировали методику Ходж-теста или «теста с помощником», принцип которого сводится к тому, что исследуемый микроб, если он образует карбапенемазы, помогает заведомо чувствительному штамму преодолеть действие бета-лактаманного антибиотика. Если тестируемый микроб не образует карбапенемазы, то подавление роста референтного штамма происходит в обычном режиме.

Результаты исследования. За данный период было протестировано 406 культур подозрительных на наличие карбапенемаз. Положительный микробный пейзаж микроорганизмов в модифицированном Ходж - тесте из реанимационного отделения представлен следующими микроорганизмами: *Pseudomonas aeruginosa* - 5 культур, *Acinetobacter spp.* - 2 культуры, *Klebsiella pneumoniae* – 1 культура. Все подтвержденные культуры были получены из мокроты. Пейзаж микроорганизмов положительных в Ходж – тесте из хирургического отделения оказался более разнообразным, все культуры были выделены из раневого отделяемого и представлены

следующими видами: *Klebsiella pneumoniae* – 4 штамма, *Acinetobacter spp.* - 2 штамма, *Pseudomonas aeruginosa* - 9 штаммов, *E.coli* - 4, *Serratia spp.* - 4, *Burholteria cepacia* -1.

Исследования на карбапенемазы при использовании модифицированного Ходж-теста подтверждалось параллельным проведением метода «Двойных дисков» с этими же культурами. Оказалось, что в сомнительных случаях при определении карбапенемаз методом «Двойных дисков» модифицированный Ходж-тест был более информативным и простым в исполнении. И к тому же наблюдалась почти полная корреляция между этими двум исследованиями. Также были подтверждены литературные данные о том, что у микроорганизма *Burholteria cepacia* выявление карбапенемаз не требуется так, как он продуцирует природные карбапенемазы.

Выводы:

1. В рутинной работе бактериологической лаборатории необходимо внедрение систем микробиологического мониторинга, направленного на выявление резистентности к карбапенемам среди клинических изолятов и расшифровку ее механизмов. Микробиологический мониторинг должен включать фенотипическое выявление карбапенемаз у штаммов, устойчивых к меропенему и имипенему, или имеющих сниженную чувствительность к этим препаратам.
2. Штаммы с выявленной в фенотипическом тесте продукцией карбапенемаз, а также штаммы с сомнительными результатами фенотипического теста должны передаваться в референсные лаборатории для выполнения молекулярно-генетических исследований.
3. Исследование на карбапенемазы при использовании модифицированного Ходж-теста оказался достаточно специфичным, информативным, хотя бы настолько, чтобы подтвердить нецелесообразность (или, наоборот, возможность) применения карбапенемов в лечебных целях у конкретного больного с учетом свойств выделенного возбудителя инфекции.
4. Необходимо знать о том, что некоторые штаммы способны продуцировать природные карбапенемазы и в повседневной работе нет необходимости определять у них данный фермент. К таким микроорганизмам относятся: *Burholteria cepacia*, *Chryseobacterium spp.*, *Aeromonas spp.*, *S.maltophilia*.

СОВРЕМЕННЫЙ ПОДХОД К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ АНТИСЕПТИКОВ В СОСТАВЕ ЗУБНЫХ ПАСТ.

Л.Т. Мусина, А.Б. Абдрашитова

ГБОУ ВПО «Казанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
Кафедра микробиологии
Кафедра стоматологии детского возраста
г.Казань

Актуальность работы: На сегодняшний день в состав зубных паст входят два антисептика: хлоргексидин и триклозан, причем, существует две формы использования триклозана в составе зубных паст – в комплексе с системой Гантрес (сополимер поливинилметилового эфира с малеиновым ангидридом), и без нее.

Антисептики в составе зубных паст оказывают бактериостатическое (подавление усвоения незаменимых аминокислот микроорганизмами) и бактерицидное (дезорганизация цитоплазматической клеточной мембраны микробов) действие в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, дерматофитов и дрожжеподобных грибов.

В литературе показано возможность влияния антисептиков в составе зубных паст на микрофлору полости рта. Однако, вопросы длительности их использования и действие на стоматологический и микробиологический статус пациентов остаются не изученным.

Целью нашего исследования является изучение действия антисептиков в составе зубных паст при длительном применении на стоматологический и микробиологический статус пациентов.

Материалы и методы исследования. Исследовали 167 человек с санированной полостью рта и без соматических заболеваний в анамнезе, у которых проведено исследование микрофлоры при однократном применении зубных паст до чистки зубов, затем сразу, через 1 и 3 часа после чистки зубов. Далее, из всех участников были отобраны 60 человек для динамичного изучения за состоянием полости рта.

Испытуемые были разбиты на 4 группы: 1 группа (15 человек) применяли зубную пасту, содержащую 0,3 % триклозана с системой Гантрез, 2 группа (17 человек) — зубную пасту, содержащую 0,3 % триклозана, 3 группа (18 человек) — зубную пасту, содержащую 0,2 % хлоргексидина, 4 группа (10 человек) — зубную пасту без антисептиков (контрольная группа). В течение 9 месяцев группы №1, 2, 4 пользовались зубными пастами и зубными щетками средней жесткости. Испытуемые 3 группы применяли зубную пасту в течение 1 месяца. Данный срок регламентирован инструкцией по применению. Исследуемые чистили зубы стандартным методом чистки в течение трех минут 2 раза в день: утром - после завтрака, вечером - после последнего приема пищи; используя при этом по 0,5 мл зубной пасты. Зубные щетки меняли 1 раз в три месяца.

В работе использовали клинические, индексные, микробиологические тесты. Исследование в группах №1, 2, 4 проводилось в динамике: до использования зубных паст, а затем через 2 недели, 1, 3, 6, 9 месяцев пользования пастами. Исследование в группе №3 проводилось до использования зубной пасты, а затем через 2 недели, 1 месяц после пользования пастой. Каждому испытуемому выдали «Дневник наблюдения за действием зубной пасты полости рта». Микробиологические исследования проводилось микроскопическим и бактериологическим методами по стандартным методикам.

Полученные результаты. Большинство испытуемых до начала эксперимента имели низкую интенсивность кариеса. У 5 из 60 отобранных для динамичного исследования мы обнаружили недостаточный минерализующий потенциал, данных участников мы зачислили в контрольную группу. У остальных — ротовая жидкость была пересыщена минеральными компонентами. У всех испытуемых отмечалась хорошая гигиена полости рта (полное отсутствие налета), здоровое состояние тканей пародонта (индекс РМА=0).

При изучении микробной чистоты антисептических зубных паст, рост микроорганизмов через 24-72 часа не наблюдался. При исследовании зубной пасты без антисептиков наблюдали наличие единичного роста колоний микроорганизмов, что соответствует норме.

Использование зубных паст с антисептиками более 2 недель привело к значительному изменению стоматологического и микробиологического статуса пациентов, в контрольной группе изменений не наблюдалось.

Выводы.

- 1) Использование антисептиков в составе зубных паст в роли консерванта определяет их микробную чистоту.
- 2) Длительное применение (более 2 недель) антисептических зубных пасты приводит к изменению pH ротовой жидкости в кислую сторону и ее микроструктуры в сторону понижения минерализующей способности, что является крайне неблагоприятным прогнозом для развития кариеса.
- 3) Использование антисептических зубных паст (более 2 недель), приводит к количественному и качественному изменению микробной флоры полости рта, что является неблагоприятным прогнозом в развитии дисбактериоза.
- 4) Восстановление микрофлоры полости рта после однократной чистки зубов антисептической пастой происходит через 1 час.

СОСТОЯНИЕ МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА ПОЛОСТИ РТА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ АНТИСЕПТИЧЕСКИХ ЗУБНЫХ ПАСТ В КАЧЕСТВЕ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО СРЕДСТВА.

А.Б. Абдрашитова, Л.Т. Мусина

ГБОУ ВПО «Казанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
г. Казань

Одним из наиболее информативных показателей – «индикаторов» состояния как организма в целом, так и полости рта (ПР) является микрофлора, а также взаимодействие факторов местной и общей неспецифической резистентности организма. Изменение баланса микрофлора-макроорганизм неизбежно ведет к изменению местного иммунитета ПР. Воздействие на организм различных веществ (антисептики, антибактериальные препараты и др.) может разрушить тонкие, совершенные механизмы защиты.

В настоящее время, в составе зубных паст широко используют антисептики, такие как хлоргексидин и триклозан, причем, существует две формы использования триклозана в их составе – в комплексе с системой Гантрез (сополимер поливинилметилового эфира с малеиновым ангидридом), и без нее. Данные пасты относятся к категории лечебно-профилактических с рекомендацией их использования ежедневно в течение неограниченного количества времени.

Одним из факторов местного иммунитета ПР, содержащихся в ротовой жидкости, является лизоцим. Оценка нормы активности лизоцима в биологических жидкостях отличается при использовании различных методик. Существует метод количественной оценки состояния местного иммунитета, в котором указывается условная норма активности лизоцима, которая составляет 40%. В то же время, Стогний В.И. и соавторы при модификации методики определения активности лизоцима в биологических жидкостях, указывают на уровень активности в пределах $68-71\% \pm 0,7$.

В научной литературе показано возможность влияния антисептиков в составе зубных паст на микрофлору ПР. Однако, вопросы длительного использования зубных паст, содержащих

антисептики, и действие их на состояние микрофлоры и местного иммунитета ротовой полости остаются недостаточно изученными.

Цель работы: Определить влияние антисептиков в составе зубных паст на микробиологический и иммунологический статус здоровых лиц.

Материалы и методы исследования. Для эксперимента были отобраны 53 здоровых лица в возрасте 19-20 лет, которые до начала исследования для гигиены ПР использовали различные зубные пасты. Для частоты опыта лица, использовавшие ранее антисептические зубные пасты (5 человек от всех испытуемых) были распределены по разным группам. Перед началом исследования у всех испытуемых было получено информированное согласие на проведение эксперимента и разъяснено, что в течение месяца им необходимо использовать конкретную зубную пасту и зубную щетку средней жесткости.

Испытуемые были разбиты на 4 группы: 1 группа (13 человек) применяли зубную пасту, содержащую 0,3 % триклозана с системой Гантрез; 2 группа (13 человек) — зубную пасту, содержащую 0,3 % триклозана; 3 группа (11 человек) — зубную пасту, содержащую 0,2 % хлоргексидина; 4 группа (13 человек)—зубную пасту без антисептиков (контрольная группа).

В работе применяли клинические и микробиологические тесты. Исследование в группах проводилось в течение 1 месяца.

Активность лизоцима в ротовой жидкости определяли по модифицированной методике Ермолаевой З.В.. Эталонную тест-культуру и стандарт для исследования получили в ГИСК им.Тарасевича. Активность лизоцима ротовой жидкости вычисляли по формуле: $L = (D_0 - D_1) / D_0 \times 100\%$;

где L—активность лизоцима (%); D₀—оптическая плотность до инкубации, D₁—оптическая плотность после инкубации.

Микробиологические исследования проводилось микроскопическим и бактериологическим методами по стандартным методикам.

Оценку состояния микрофлоры ПР у испытуемых проводили на основании исследования трех биотопов: зубная бляшка, соскоб с языка, мазок со слизистой оболочки десны. Полученные данные подвергались статистическому и корреляционному анализу, применялись методы математической статистики для расчета критерия достоверности, средних величин, средних ошибок и др. Расчеты и основные исходные данные визуализировали буквенно-цифровым способом и средствами Microsoft Excel 2000 и Microsoft Word 2000.

Полученные результаты и их обсуждение.

У большинства (97,5% ± 0,05) испытуемых до начала исследования отмечалась низкая интенсивность кариеса, хорошая гигиена ПР, здоровое состояние тканей пародонта (индекс РМА=0).

До начала использования зубных паст у исследуемых микрофлора ротовой полости была в пределах нормы. В составе зубных бляшек преобладали кокковые формы микроорганизмов над палочковидными и нитевидными. Негемолитические формы бактерий доминировали над гемолитическими в соотношении 1:0,1. Аналогичные результаты были получены и через 2 недели использования испытуемыми зубных паст .

Через месяц эксперимента, у лиц, использующих зубные пасты с антисептиками, в составе микробиоценоза произошли изменения—уменьшилось общее количество жизнеспособных бактерий. До начала исследования общее количество колоний на чашках Петри составляло в среднем $172,3 \pm 3,4$; а через 1 месяц эксперимента снизилось до $56,6 \pm 1,2$ колоний. Кроме того, изменился качественный состав микробиоценоза. Применение антисептических зубных паст

одновременно привело к уменьшению общего количества негемолитических и увеличению зеленающих и гемолитических видов бактерий. Соотношение негемолитических форм к гемолитическим составило 0,2:1. Причем, описанные выше изменения значительно более выражены в 1 и 3 группах, чем во 2-ой. В контрольной группе изменений не наблюдалось.

Активность лизоцима у обследуемых нами здоровых лиц, до начала исследования колебалась в пределах от 31,2% до 54,5% и в среднем $32,0 \pm 0,17$. Полученный параметр активности лизоцима ($32,0 \pm 0,17$) в ротовой жидкости мы приняли за норму.

Через 2 недели эксперимента у испытуемых контрольной группы изменений активности лизоцима не наблюдалось. Не изменилась она в 1-ой ($31,23 \pm 0,21$) и во 2-ой ($36,31 \pm 0,32$) группах (пасты, содержащие триклозан с системой Гантрез и без нее). Однако, произошло статистически достоверное повышение уровня активности лизоцима в 3-ей группе у лиц, использующих зубную пасту с хлоргексидином до $56,5 \pm 0,17$ ($p < 0,01$).

Через месяц эксперимента в контрольной группе активность лизоцима осталась без изменений ($32 \pm 0,07$), не изменилась она и в 3-ей группе ($56,4 \pm 0,31$) по сравнению с двумя предыдущими неделями эксперимента. В 1-ой и 2-ой группах показатели статически достоверно увеличились до $44,93 \pm 0,21$ ($p < 0,01$) и $44,40 \pm 0,17$ ($p < 0,01$), соответственно. Таким образом, в результате проведенного эксперимента нами выявлено изменение неспецифической резистентности ПР, в сторону активации факторов местного иммунитета.

Выводы.

1. Антисептики способны влиять на уровень местного иммунитета ПР, вызывая вначале повышение иммунологической функции, а при длительном воздействии (более 2-х недель)—ее угнетение.

2. Использование антисептических зубных паст (более 2 недель), приводит к количественному и качественному изменению микробной флоры ПР, что является неблагоприятным прогнозом в развитии дизбактериоза.

3. Назначение и использование антисептических зубных паст должно быть только по показаниям и ограниченное количество времени не более двух недель.

4. При длительном использовании антисептических зубных паст в системе «микрофлора-макроорганизм» происходит изменение состояния микробиоценоза, что может отразиться на уровне активности местного иммунитета ротовой полости.

МИКРОБНАЯ ЧИСТОТА КОСМЕТИЧЕСКИХ КРЕМОВ

А.Н. Савинова, В.А. Бухалова

ГБОУ ВПО «Казанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
г. Казань

Трудно представить нашу жизнь без парфюмерно-косметической продукции. Многие изделия необходимы для личной гигиены, остальные представляют собой декоративную косметику.

Насколько безопасны средства, которыми пользуется множество людей в повседневной жизни?

Цель исследования: изучить микробную чистоту образцов тональных кремов.

Для защиты жизни и здоровья человека решением Комиссии Таможенного союза в 2011 году разработан Технический регламент Таможенного союза «О безопасности парфюмерно-косметической продукции» (ТР ТС 009/2011), в котором изложены требования безопасности:

1. Применение красителей и консервантов, разрешенных к использованию
2. К водородному показателю (pH)
3. К токсикологическим и лабораторным показателям
4. Микробиологические показатели

Для проверки микробиологической чистоты косметических средств определяют следующие микробиологические показатели: количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ), количество *Escherichia coli*, количество *Staphylococcus aureus*, количество *Pseudomonas aeruginosa*.

Материалы. Исследованы 7 образцов тонального крема различных наименований следующих изготовителей: Vichy, Maybelline, Л'Этуаль, L'Oreal, Garnier, MaxFactor, AVON.

Методы. Для определения МАФАнМ приготовили разведения кремов в физиологическом растворе 1:10 и 1:100. Внесли по 1 см³ раствора в две стерильные чашки Петри, затем залили расплавленным и остуженным до 45-49 °С питательным агаром. Смешали содержимое чашек на горизонтальной поверхности. После застывания агара чашки с посевами поместили в термостат вверх дном и инкубировали в течение 48 часов при 37 °С.

Для определения *Escherichia coli* 1 см³ исследуемого крема в разведении 1:10 засеяли в среду Кесслера. Посевы инкубировали 24 часа при 37 °С. На следующий день делали высев петлей на среду Эндо. Чашки инкубировали 24 часа при 37 °С.

Для выявления коагулазаположительных стафилококков 1 см³ исследуемого крема в разведении 1:10 засеяли в солевой бульон (6,5%). Посевы инкубировали 24 часа при 37 °С. На следующий день делали высев петлей на ЖСА. Чашки инкубировали 24 часа при 37 °С. Изучали характер роста. На присутствие стафилококков указывает наличие грамположительных кокков, образующих пигментированные колонии S-формы, дающих положительную реакцию в тесте плазмокоагуляции (РПК) и на лецитовителлазу.

Для определения синегнойной палочки специальные посевы можно не производить, так как рост колоний удастся обнаружить на среде Эндо или питательном агаре. На среде Эндо колонии должны быть плоские, желтовато-красные, без металлического блеска, со специфическим запахом. На питательном агаре колонии расплывчатые, с просвечивающим краем; среда приобретает зеленоватый цвет. При окраске по Граму выявляют грамотрицательные палочки.

Результаты.

1. При выявлении МАФАнМ в образце крема Dream fresh BB (Maybelline) была обнаружена одна колониеобразующая единица (КОЕ).

2. При выявлении *Escherichia coli* на среде Эндо роста колоний не наблюдали.

3. При выявлении *Staphylococcus aureus* на ЖСА наблюдали рост колоний с лецитовителлазной активностью (образец крема Garnier BB Cream). После пересева на скошенный МПА, провели идентификацию выделенной чистой культуры.

При микроскопии в мазках были обнаружены мелкие грамположительные кокки, расположенные гроздьями. Реакция плазмокоагуляции (РПК) положительная. Выявлена ферментация маннита в анаэробных условиях.

4. Выявление *Pseudomonas aeruginosa*.

Подозрительные колонии на среде Эндо не обнаружены.

В техническом регламенте ТС «О безопасности парфюмерно-косметической продукции» представлены следующие микробиологические показатели безопасности парфюмерно-косметической продукции (за исключением детской косметики, вокруг глаз, для губ, интимной, средств гигиены полости рта). Общее количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов не более 10^3 колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1г (мл). Наличие *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* не допускается в 0,1г или 0,1 мл.

Выводы. Исследования показали, что в тональных кремах производителей Vichy, L'Oreal, MaxFactor, Л'Этуаль и AVON содержание КМАФАнМ не превышает допустимый уровень; *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* не выявлены.

Однако, в тональном креме Garnier BB Cream обнаружен *Staphylococcus aureus*, что не соответствует требованиям ТР ТС «О безопасности парфюмерно-косметической продукции» (ТР ТС 009/2011).

ГЕМОРРАГИЧЕСКАЯ ЛИХОРАДКА С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН

А.А. Хабибуллина, Ю.В. Валеева

ГБОУ ВПО «Казанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
г. Казань

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) - острая вирусная природно-очаговая инфекция, характеризующаяся лихорадкой, общей интоксикацией, поражением почек и развитием тромбогеморрагического синдрома.

Возбудителем болезни является вирус рода *Hantavirus* семейства *Bunyaviridae*. Вирус имеет сферическую форму, геном вируса - сегментированная одноцепочечная отрицательная РНК.

Вирусная природа этого инфекционного заболевания была доказана в 1944 г. А. А. Смородинцевым, в 1954 году им было предложено название ГЛПС. В 1978 г. южно-корейский ученый Н. W. Lee выделил из легких грызуна вирус *Hantaan* (по названию реки Корейского полуострова). В 1982 году Всемирная организация здравоохранения рекомендовала обозначать данную нозологическую форму, имевшую до того разные названия, как геморрагическую лихорадку с почечным синдромом.

В Финляндии в тканях другого мелкого грызуна, рыжей полевки, был обнаружен возбудитель более легкой формы заболевания, описанной в Европе - вирус *Puumala* (PUUV) и возбудитель ГЛПС в городских очагах - вирус *Seoul* (SEOV), циркулирующий в крысах.

Около деревни Добрава в Словении был открыт еще один патогенный хантавирус *Dobrava/Belgrade* (DOBV), а несколько лет спустя - близкородственный менее патогенный вирус *Saaremaa* (SAAV) на острове Сааремаа в Эстонии.

В России ГЛПС по уровню заболеваемости занимает ведущее место среди природно-очаговых болезней человека и регистрируется на 61 из 89 административных территорий. Самые высокие показатели ежегодной заболеваемости ГЛПС регистрируются в Уральском, Поволжском и Волго - Вятском регионах.

Зарегистрировано 2453 случая ГЛПС, из них 2161 случай (88%) – в субъектах Приволжского федерального округа, на территории которого находятся стойкие природные очаги ГЛПС.

Заболеваемость геморрагической лихорадкой с почечным синдромом в Приволжском федеральном округе выросла в 2 раза и составила 1,72 на 100 тыс. населения против 0,85 за январь-июль 2011 г

Наиболее активные природные очаги ГЛПС в Татарстане расположены в Альметьевском, Лениногорском, Бавлинском, Нижнекамском, Заинском, Бугульминском, Тукаевском, Чистопольском районах и г.Набережные Челны, на долю которых приходится более половины всех зарегистрированных случаев заболевания.

За последние 12 лет в Республике Татарстан зарегистрировано 13000 случаев ГЛПС, из них 56 закончились летальным исходом. При этом, 85% умерших от ГЛПС, обратились за медицинской помощью на поздних сроках заболевания. В 2010 году было выявлено 512 больных с ГЛПС.

ГЛПС относится к зоонозам с природной очаговостью. Резервуаром возбудителя служат мышевидные грызуны. В Европейской части России источником инфекции является рыжая полевка. У мышей эта инфекция проявляется в виде латентного вирусоносительства. Возбудитель выделяется с калом, мочой.

Заболевание регистрируется круглый год, чаще заражение происходит весной и летом, что связано с сезонными сельскохозяйственными работами, а также с выездом на дачи и отдыхом на природе.

Заражение человека происходит:

- 1) аэрогенным путем (воздушно-пылевым). Вирус поступает в организм человека при уборке сена, соломы, при проведении уборки в садовых и дачных домах
- 2) контактным путем при соприкосновении с грызунами или через инфицированные предметы - контактно-бытовой способ;
- 3) алиментарным путем — через продукты питания, инфицированные вирусом

Передачи инфекции от человека к человеку не происходит.

Начальный период продолжается от 1 до 3 дней и проявляется повышением температуры тела до 38-40 °С, ознобом, сильной головной болью, слабостью, сухостью во рту, гиперемией кожи лица, шеи, верхних отделов груди (симптом "капюшона"), гиперемией слизистой оболочки зева, на фоне гиперемизированных конъюнктив, иногда можно заметить геморрагическую сыпь.

Начиная со 2-4-го по 8-11-й день болезни наиболее типичным проявлением болезни является олигурия (вплоть до анурии). У больных с более тяжелым течением ГЛПС развивается тромбогеморрагический синдром. Отмечается повышенная ломкость сосудов, появление петехий, кишечные кровотечения, кровоподтеки в местах инъекций, носовые кровотечения, кровоизлияния в склеру.

С 20-25 дня наступает период выздоровления.

Осложнения: азотемическая уремия, эклампсия, разрыв почки, острая сосудистая недостаточность, отек легких, очаговые пневмонии.

Для микробиологической диагностики используют серологический метод. Антитела к вирусу выявляют в парных сыворотках методом ИФА.

С целью ранней диагностики применяют ПЦР для обнаружения фрагментов вирусной РНК в крови. Выделение вируса из крови и мочи больных проводят биологическим методом. Выявляют

вирусных антигены в легких зараженных мышей с помощью РИФ, а также антитела в сыворотке крови методом ИФА.

Для неспецифической профилактики ГЛПС во время работы при большом количестве пыли необходимо использование четырехслойной марлевой повязки и рукавиц. Уборка помещений должна проводиться только влажным способом с применением дезинфицирующих средств. Необходимо просушивание постельных принадлежностей на солнце. Продукты должны быть недоступными для грызунов, храниться в металлической, плотно закрывающейся таре. Поврежденные грызунами пищевые продукты нельзя использовать в пищу без термической обработки. Нельзя прикасаться к живым или мертвым грызунам без рукавиц или резиновых перчаток.

В настоящее время в России для специфической профилактики ГЛПС разработана убитая вакцина из штамма К-27 вируса Пуумала, выделенного из крови больного.

Для лечения применяют амиксин, препараты интерферонов (реаферон, лейкинферон). Также для лечения и экстренной профилактики разработан специфический иммуноглобулин человека.

Симптоматическую терапию проводят с применением раствора глюкозы, физиологического раствора, для профилактики ДВС-синдрома используют пентоксифиллин, ксантаннола никотинат, дипиридамол, в начальном периоде показан гепарин.

При неэффективности проводимой терапии рекомендовано проведение экстракорпорального гемодиализа.

МОНИТОРИНГ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ КЛЕЩЕВЫМ ЭНЦЕФАЛИТОМ В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН

Ч.Р. Латифиуллина, Ю.В. Валеева

ГБОУ ВПО «Казанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
г. Казань

Клещевой энцефалит - вирусная инфекция, поражающая центральную и периферическую нервную систему, осложнениями которой могут быть параличи, либо летальный исход.

В Республике Татарстан из 45 административных территорий республики 26 являются эндемичными по клещевому энцефалиту. Заболеваемость клещевым вирусным энцефалитом носит спорадический характер. В последнее время регистрируются единичные, в основном, завозные случаи заболевания.

За период с 2002 по 2011 годы в Республике Татарстан зарегистрировано 35 случаев клещевого энцефалита.

В 2010 году из 4 зарегистрированных случаев клещевого энцефалита только в 1 случае заражение произошло на территории республики (Муслюмовский район). В 2011 году зарегистрирован 1 завозной случай клещевого энцефалита. За 9 месяцев 2012 года зарегистрировано 3 случая (1 случай – в Муслюмовском и 2 случая – в Елабужском районах). В 2013 году зарегистрировано 4 завозных случая клещевого энцефалита (из Республики Башкирия и Республики Удмуртия).

Всего за период с 2007 по 2012 годы на клещевой энцефалит было исследовано 3420 клещей, из них 61 дали положительный результат.

Для оценки эпидемической ситуации в 2012 году из окружающей среды доставлено 779 клещей из 13 районов РТ. При исследовании проб для обнаружения антигенов вируса клещевого энцефалита методом ИФА все результаты были отрицательными.

В 2012 году исследовано 798 клещей, снятых с человека. Положительных на клещевой энцефалит биопроб оказалось 16.

В 2012 году в лечебные учреждения РТ обратилось по поводу укусов клещей в 1,4 раза больше пострадавших, чем в 2011 году. Наибольшее количество укусов клещей регистрируется в мае и сентябре.

В 2012 году наблюдалось увеличение заболеваемости клещевым энцефалитом в Татарстане в 0,4 раза. Повышение уровня заболеваемости является следствием роста активности природных очагов клещевого энцефалита.

Возбудитель клещевого энцефалита — РНК-содержащий вирус. Относится к роду *Flavivirus* семейства *Flaviviridae*.

Основным резервуаром вируса клещевого энцефалита в природе являются его главные переносчики, иксодовые клещи. Реальное эпидемиологическое значение имеют только два вида: *Ixodes Persulcatus* (таежный клещ) и *Ixodes Ricinus* (европейский лесной клещ).

Клещи заражаются от инфицированных вирусом клещевого энцефалита животных. Чаще всего клещи заражаются от грызунов. Зараженные клещи сохраняют вирус всю жизнь, передавая вирус трансвариально. При следующем кормлении клещ передает вирус другому животному.

Пути передачи вируса человеку: трансмиссивный (при укусе инфицированных клещей) и алиментарный (через пищеварительный и желудочно-кишечный тракты при приеме сырого молока коз и овец, зараженных клещевым энцефалитом).

После укуса инфицированного клеща, вирус клещевого энцефалита размножается в месте укуса. Потом вирус проникает в лимфоузлы и кровь и начинает размножаться. При массовом размножении вируса, появляются симптомы, похожие на симптомы гриппа. В мозг вирус может попасть только через гематоэнцефалический барьер.

Клещевой энцефалит начинается остро, с озноба, с резкого повышения температуры до 38-40 °С. Выделяют пять клинических форм болезни: лихорадочную, менингеальную, менингоэнцефалическую, полиомиелитическую, полирадикулоневротическую.

Возможны осложнения клещевого энцефалита: нарушение деятельности мышц шеи, вялые параличи конечностей, от 2 до 20 % случаев летальный исход.

Клещевой энцефалит после выздоровления человека оставляет длительный и прочный иммунитет.

Материалом для микробиологической диагностики являются клещи, кровь и СМЖ больных людей. Для экспресс-диагностики применяют молекулярно-биологический метод, выявляя РНК вируса в клещах, органах животных, в крови и цереброспинальной жидкости людей с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Также проводят выявление вирусных антигенов в крови с помощью РНГА и ИФА. Для исследований на наличие антигена используют живой материал, ПЦР диагностика возможна по фрагментам клеща.

Выделение вируса из крови и спинно-мозговой жидкости путем введения материала в мозг новорожденным белым мышам и заражения культур клеток.

Антитела к вирусу определяют в парных сыворотках крови больного по РСК и РТГА.

Меры неспецифической профилактики: защита от укуса клещей, кипячение молока, само- и взаимоосмотры на выходе из леса и на привалах. Общественная профилактика клещевого энцефалита направлена на уничтожение или сокращение численности клещей.

Экстренную профилактику проводят для предотвращения развития заболевания. При обнаружении впившегося в тело клеща в течение первых 3-х дней (лучше в течение суток) необходимо обратиться в медицинское учреждение для введения донорского иммуноглобулина против клещевого энцефалита.

Для специфической профилактики клещевого энцефалита применяют культуральную очищенную концентрированную инаktivированную вакцину (РФ), ЭнцеВир (EnceVir) (РФ), ФСМЕ-Иммун Инжект/Джуниор (FSME-Immun Inject/Junior) (Австрия), Энцепур Взрослый и Энцепур Детский (Германия).

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ УРОГЕНИТАЛЬНЫХ МИКОПЛАЗМОЗОВ

А.Н. Савинова, Г.Х. Хусаинова

ГБОУ ВПО «Казанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
г. Казань

Микоплазмы относят к семейству *Mycoplasmataceae*, которое включает 2 рода: *Mycoplasma* и *Ureaplasma*. Это мелкие бактерии, лишенные истинной клеточной стенки и способные к паразитированию на мембранах эукариотических клеток. Микоплазмы образуют кокковидные, ветвящиеся, крупные многоядерные формы, а также псевдомицелий. Грамотрицательны, для окраски чаще используют метод Романовского-Гимзы.

Микоплазмы выращивают на сложных питательных средах с добавлением нативной сыворотки, холестерина, нуклеиновых кислот, витаминов. Для выделения уреоплазм добавляют мочевины. На плотных средах микоплазмы образуют мелкие колонии с приподнятым более темным и зернистым центром и уплощенной периферией типа “яичницы глазуньи”. Для культивирования также используют куриные эмбрионы.

Факторами патогенности микоплазм являются адгезины, эндо- и экзотоксины, ферменты агрессии и продукты метаболизма.

Микоплазмы вызывают заболевания растений, животных и человека.

M.pneumoniae вызывает респираторные микоплазмозы; *M.hominis*, *M.genitalium* и *U.urealyticum* – возбудители урогенитальных микоплазмозов. Длительные микоплазменные инфекции приводят к развитию иммунодефицита.

Основные пути передачи урогенитальных микоплазм половой и контактно-бытовой для новорожденных (при прохождении через инфицированные родовые пути).

В зависимости от расположения выделяют следующие урогенитальные микоплазмозы: микоплазменный цервицит, уретрит, эндометрит, простатит, сальпингит и т.д.

Инфекционный процесс, вызываемый микоплазмами, может протекать в острой, хронической и бессимптомной формах.

Клинические симптомы: зуд в области мочеполовых органов, небольшие слизистые выделения, исчезающие и через некоторый промежуток времени вновь появляющиеся и усиливающиеся.

У мужчин микоплазменная инфекция поражает простату, семенные пузырьки, уретру, мочевой пузырь, мочевыводящие пути и почки. При мужском бесплодии желательно взять образец спермы для посева на выявление микоплазм и уреоплазм.

Женщины в большинстве случаев являются лишь носителями микоплазм. Стрессовые факторы, действующие на носителя микоплазм, могут привести к обострению инфекции или хроническому течению.

Главные симптомы эндометрита – кровотечения и нарушения менструального цикла. Микоплазменный эндометрит может осложниться внутриутробным заражением плода, самопроизвольным выкидышем и привести к бесплодию.

У больных циститом и пиелонефритом выделяют *Mycoplasma hominis*, которая может вызывать потенциально опасную скрытую инфекцию. Такая инфекция, при ряде условий, может становиться активной и явиться причиной таких тяжелых септических процессов, как перитонит, послеабортный или послеродовой сепсис.

Присутствие *Mycoplasma hominis* у беременных женщин и у женщин с гинекологическими заболеваниями является опасным, так как при этом имеется риск инфицирования плода, что ведет к увеличению перинатальной смертности новорожденных.

Для микробиологической диагностики урогенитальных микоплазмозов материалом являются соскобы со слизистой уретры, влагалища, цервикального канала, мазки-отпечатки тканей мертворожденных и абортированных плодов, срединная порция утренней мочи. При простатите исследуют секрет простаты, при мужском бесплодии – сперму.

Применяют следующие методы микробиологической диагностики микоплазмозов: серологический, молекулярно-генетический, и бактериологический.

В мазках-отпечатках тканей, соскобах из уретры, цервикального канала и влагалища, в секретах простаты и сперме выявляют антигены микоплазм с помощью прямой и непрямой РИФ. В сыворотке крови больных антигены микоплазм выявляют также по реакции агрегат-гемагглютинации (РАГА) и ИФА. Выявление антител имеет меньшее диагностическое значение. Для этой цели в ряде случаев используют ИФА. IgM определяют в парных сыворотках для подтверждения острой микоплазменной инфекции, а IgG и IgM – при хронической инфекции.

Молекулярно-генетический метод диагностики проводят с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) и ПЦР в реальном времени (real-time ПЦР), предназначенных для качественного и количественного определения возбудителей.

В настоящее время на смену визуальной оценке результатов ПЦР методом электрофореза приходят флуоресцентные методы детекции продуктов амплификации ПЦР в реальном времени (real time ПЦР)..

Одним из этих методов является метод ПЦР в режиме реального времени. В его основе лежит принцип флуоресцентной детекции продуктов ПЦР непосредственно в ходе амплификации. Детекция продуктов амплификации проводится прямо в реакционной среде через стенки или крышку закрытой пробирки.

Преимущества ПЦР в реальном времени: объединение этапов амплификации и детекции результатов; существенное снижение риска контаминации и ошибок при анализе результатов, высокая специфичность реакции за счет использования флуоресцентных зондов, возможность

количественной оценки исходной ДНК матрицы, регистрация и учет данных в электронном формате.

Однако, ПЦР может улавливать даже единичные фрагменты ДНК, которые могут оставаться некоторое время после лечения, поэтому контроль эффективности проводимого лечения рекомендуется проводить не ранее чем через 2-3 недели после его окончания.

При получении положительного результата при исследовании материала в ПЦР, применяют бактериологический метод. Производят посев того же материала на специальные плотные питательные среды. Затем микроскопируют подозрительные колонии, определяют количество колониеобразующих единиц (КОЕ), идентифицируют выделенные чистые культуры и определяют чувствительность к антибиотикам.

Отрицательный результат бактериологического исследования при положительном результате ПЦР может свидетельствовать о персистирующей инфекции.

*Казанскому государственному
медицинскому университету 200 лет*

